الميكروبيولوجيا العامة

دكتور
حسين عبد الله محمد الفضالى
أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجي
كلية الزراعة بدمياط – جامعة المنصورة

الطبعة الأولى
٢٠٠٧

الميكروبيولوجيا العامة

دكتور
حسين عبد الله محمد الفضالى
أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجي
كلية الزراعة بدمياط – جامعة المنصورة

الطبعة الأولى
٢٠٠٧

مكتبة نانسي دمياط

هـاتف: ٢٤٠٨٥٥٣ -٢٤٠٨٥٥٤ -٣٢٣٣٦٩

فـاكـس: ٠٥٧/٤٠٣٧٥٥

محمـول: ٠١٠١١٠٨٧١٩ - ٠١٠١٠٦ - ٠١٢٧٥١٠١٠٦ - ٠١٠٤٢٠٢٤٥٠

بطاقة فهرسة

فهرسة أثناء النشر إعداد الهيئة العامة لدار الكتب والوثائق القومية

إدارة الشئون الفنية

الفضالي، حسين عبد الله محمد.

الميكروبيولوجيا العامة/تأليف حسين عبد الله محمد الفضالي.-ط١.- دمياط: مكتبة نانسي، ٢٠٠٧.

٢٠٠ص ؛ ٢٤ سم

تدمك : ٣ ٥١ ٦١٨٦ ٩٧٧

١- تلوث البيئة ٢- التربة- تلوث

٣- الهواء-تلوث ٦١٤,٧١

رقم الإيداع : ٢٠٠٧/٢٣٣٧٥

إهـــــداء

إلى كل من علمنى حرفاً فى مشوار العلم الطويل
إلـى كـل أسـاتذتى الـذين بـذلوا جهـدهم مخلصـين
ليمهدوا لنا الطريق ويتخطوا بنـا العقبـات ويـذللوا
لنـا الصـعاب ، أقـدم لهـم خـاص شـكرى وتقـديرى
لجهدهم وعرفانا منى بالجميل

المحتويـــات

رقم الصفحة

المقدمة

مقدمة

علم الميكروبيولوجي هو العلم الذى يهتم بدراسة الكائنات الحية الدقيقة Microorganisms من مختلف نواحيها لفهم طبيعتها وأنواعها والأدوار التى تقوم بها سواء لصالح الإنسان ورفاهيته أو الإضرار به . كذلك يهتم هذه العلم بمحاولة التحكم فى نشاطها تلك الكائنات الحية الدقيقة للحصول على أقصى فائدة مرجوة منها أو لتقليل أو منع الأضرار التى تسببها الأنواع الضارة منها سواء للإنسان أو الحيوان .

ونظراً لصغر حجم الكائنات الحية الدقيقة فإن إكتشافها ودراستها جاء متأخراً خاصة بعد إكتشاف الميكروسكوب وتطويره ثم ظهور أنواع متعدد من الميكروسكوبات مما مكن العلماء من رؤيتها ووصفها وتتبع طريقة نموها وتكاثرها ومعيشتها . وليس معنى ذلك أن الكائنات الحية الدقيقة لم تكن معروفة قبل ذلك ، ولكنها كانت معروفة من الناحية النظرية فقد كان الفلاسفة اليونان وعلماء العرب الأولين يدركون بثقة أن الأمراض تنتقل عن طريق كائنات حية دقيقة لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة .

وبعد جهود العلماء الأوائل الذين فتحوا الطريق أمامنا للتعرف على الميكروبات ، تطور هذا العلم بسرعة واتسعت المعلومات بسرعة وأصبح يضم فروعاً وتخصصات عديدة وهذا طبيعى بعد أن أكتشف الدور الهام الذى تلعبه الميكروبات فى الحياة على هذه الأرض . فلقد أكتشف دورها فى التخمرات وتحلل المواد العضوية ودورها فى دورات العناصر المختلفة فى الطبيعة وكعوامل مسببة للأمراض سواء للإنسان او الحيوان والنبات . كما إكتشف أن الميكروبات عبارة عن مجموعة واسعة جداً من الأحياء تتضمن كل من البكتيريا Bacteria والفطريات Fungi والطحالب Algae والبروتوزوا Protozoa والفيروسات Viruses . هذا وقد شهدت السنوات

الأخيرة إكتشاف وحدات حية أصغر من الفيروسات ألا وهي الفيرويدات Viroids وهى لا تزيد عن كونها سلسلة منفردة من الحمض النووى Single Strand RNA تحتوى فى بعض أجزاء منها على سلسلة مزدوجة Double Strand وليس لها غطاء بروتينى كما فى الفيروسات وهي تسبب بعض الأمراض للنبات والحيوان .

تلعب أحياء الأراضى الدقيقة دوراً أساسياً فى المحافظة على خصوبة التربة الزراعية وعلى إمداد النباتات النامية بإحتياجاتها الغذائية من خلال معدنتها للمواد العضوية وتيسيرها للعناصر الغذائية وتثبيت النيتروجين الجوى وتكوين الدبال وإفرازها للكثير من المواد المشجعة للنمو كما أن تلك الميكروبات لها دور فعال فى المحافظة على التوازن البيولوجى فى الكون ، عن طريق إنتاجها لثانى أكسيد الكربون الذى تبلغ نسبته فى الجو حوالى ٠,٠٣ ٪ حجماً وذلك خلال عمليات تحلل المواد العضوية مما يعوض النقص الذى يحدث بسبب عملية التمثيل الضوئى المستمر كما أنها تحلل ملوثات البيئة والمبيدات الزراعية .

ولقد أيقن الإنسان وتأكد فيما بعد أن هذه الكائنات الحية الدقيقة تمتلك قوة جبارة ومقدرة فائقة . فهى قادرة على أن تجعل من الأقوياء الأصحاء مرضى ، وأن البعض الآخر له القدرة على تحويل المواد الصلبة إلى مخلفات سائلة يمكن تدويرها . كما أن منها أيضاً ما يمكنه تحويل الأطعمة الشهية إلى سموم ناقعة . ولقد تيقن الإنسان أيضاً أن من هذه الكائنات ما يمكنها أن تقلل من إنتاج المحاصيل المختلفة نتيجة لإصابتها للنبات مسببة له أمراضاً مختلفة .

وما لبث الإنسان أيضاً أن تعرف على أن من الكائنات الحية الدقيقة ما هو نافع له فى نواحى حياته المختلفة . وبالرغم من كثرة تعداد الكائنات

النافعة للإنسان إلا أن أهميتها الإقتصادية لم تتبين له إلا منذ سنوات قليلة . وفى خلال هذه الحقبة من الزمن سخر الإنسان هذه الكائنات فى إنتاج كثير من المواد الكيماوية من العصارات النباتية المتخمرة كالكحول والخل والأسيتون ، كما إستغلت هذه الكائنات أيضاً فى إنتاج المضادات الحيوية التى أمكن عن طريقها علاج كثير من الأمراض الميكروبية التى كان يستعصى علاجها من قبل . كما إستطاع الإنسان أن يعرف الدور الهام فى زيادة خصوبة الأراضى والذى تقوم به محتويات الأرض من الكائنات الحية الدقيقة فتبين له أنها تعمل على التخلص من البقايا العضوية – نباتية كانت أو حيوانية – وتمنع تكدسها بالتربة . وأنها تهدم أو تحلل المواد البروتينية والكربوهيدراتية المعقدة محولة أياها إلى مواد أبسط تعقيداً يسهل على النباتات المنزرعة أستعمالها كمواد غذائية .

هذا ويعتبر كل من الميكروب والجراثيم من أخطر الموضوعات التى تمس حياة الإنسان حيث يتبادر إلى الأذهان عند ذكر الميكروبات آلام الأمراض المعدية ولكن هذا يعتبر احد جوانب الحقيقة أذا تعمقنا قليلاً ، فنحن لا نغالى حين نقول أن حياتنا فى جوانبها المتعددة ما كانت لتستقيم على صورتها المعهودة بغير تلك الكائنات الحية الدقيقة.

وإذا كان الإنسان يعتمد على الغذاء فى حياته وبقائه فإن للميكروبات دورها فى هذا حيث تساهم فى إنتاج المحاصيل وفى تصنيع بعض الأغذية المختلفة . كذلك فإننا نجد بعض الميكروبات تستقر فى أمعاء الإنسان ويزوده بشئ من حاجاته الغذائية كالفيتامينات . كذلك فإن الميكروبات تشارك فى صناعة الأطعمة المختلفة والكيماويات التى يشق علينا تخليقها فى المصانع والمختبرات . وكذلك فإن الإنسان يستفيد من الميكروبات فى التخلص من فضلاته الآدمية ونفايات حياته وبدون الكائنات الحية الدقيقة لغرق الإنسان

إلى الأذقان في ركام من فوقه ركام من الخبائث وما وجد مكان يسـير فيـه على الأرض .

ولكن الميكروبات فى الجانب الآخر تغزو غذاء الإنسـان وجسـمه وتسبب الأمراض والأوبئة وتلوث غذاءه وتفسد وتغيـر طبيعتـه وتركيبـه الكيماوى . من أجل هذا أصبح إنتاج أغذية خالية من الميكروبات الممرضة أو المسببة للفساد من الأهمية بمكان حتى يمكن توزيع هذه المـواد الغذائيـة وتداولها بصورة سليمة وصحية على مدار العام . حيـث أن بعـض هـذه الأغذية تكون معباة أو مطبوخة طبخا أوليا أو مجهزة للتسخين .

ويستعرض هذا الكتاب ببساطة علاقة الكائنات الحية الدقيقة بالإنسان سواء فى علاقته بالتربة الزراعية أو بالبيئة أو بالصحة العامة وكذلك بالغذاء ومصادر التلوث وكيفية الفساد وحدوث التسمم هذا بجانـب إعطـاء فكـرة مبسطة عن بعض الكائنات الحية الدقيقة وتركيبها ونموها وتكاثرها عـلاوة على تقسيمها ووضعها بين الأحياء . والله أسأل أن يؤدى هذا الكتاب الغرض المنشود منه فى هذا المجال لأبنائى الطلاب من طلاب كلية الزراعة ومراكز البحث العلمي والمهتمين بمجـال الزراعـة والمتخصصـين فـى مجـال الميكروبيولوجيا الزراعية وأن يجعله فى ميزان حسناتى إنه سـميع مجيـب الدعاء .

المؤلف

الفصل الأول :

الكائنات الحية الدقيقة والإنسان

الكائنات الحية الدقيقة و الإنسان

Microorganisms and Man

منشأ الكائنات الحية الدقيقة

يقول الله عز وجل فى سورة الطور " أم خلقوا من غير شئ أم هم الخالقون " (الطور ٣٥) ولقد ظهر لنا جلياً أن علماء الغرب فى القرن السابع عشر قد حاولوا التهرب من أن هناك خالقاً مديراً حكيماً خلق الكائنات ، بل وبنوا نظريات ليس لها ما يساندها من الإثبات التجريبى ولم يكن لها أى منطق علمى تبنى عليه . فقد أثارت دويبات ليفنهوك التى رآها فى قطرة الماء ومسحة اللعاب وقطرة الخمر خيال نيدهام ١٧٤٩ بأن هذه الكائنات تنشأ ذاتياً فى مرق اللحم وسمى ذلك بالخلق الذاتى . إلا أن سبلنزانى ١٧٢٩ – ١٧٩٩ قام بغليان مرق اللحم ثم سد فوهة القارورة بعد الغليان فلم يظهر أى أثر للكائنات فى المرق ، إلا أن ذلك لم يكن كافياً لإقناع نيدهام واعترض بأن وجود الهواء عاملا أساسياً فى نظريته وأن سبلنزانى أهمل هذا العامل.

وقد استطاع كل من فرانس شولتسه وثيودور شفام فى الفترة من ١٨١٠ – ١٨٨٣ إظهار خطأ نيدهام وذلك بإمرار الهواء من خلال حمض كبريتيك مركز قبل الدخول إلى قارورة المرق واعترض نيدهام بأن الحمض يفسد خواص الهواء الخلاقة وتعتبر تجربة لويس باستير عام ١٨٦٤ هى التى سدت باب الجدل حول هذه الإدعاءات حيث تم غليان المرق المكون من السكر ومستخلص الخميرة فى دورق سحب عنقه على شكل عنق أوزة فى شكل أمبوبة شعرية فلم يحدث أى تغير فى المرق . وبالرغم من هذه التجربة الحاسمة بقى بعض المعارضين الذين كانوا يستخدمون مستخلصاً مائياً لقش النجيليات حيث ظهرت بكتريا بعد الغليان فى دورق باستير . ولكن سرعان ما اكتشف كوهن عصويات القش وأنها تكون جراثيم وأنها تموت إذا

استخدمت الحرارة الرطبة فوق درجة حرارة الغليان عند ١٢٠ درجة مئوية وسمي ذلك بالتعقيم وأصبح منذ ذلك الحين الأساس في العمل المعملي لبحوث الميكروبيولوجيا .

ثم أطل هذا الفكر العقيم مرة أخرى في القرن العشرين بمحاولة الربط بين ظواهر كيماوية بسيطة مثل اتحاد بعض الغازات وهي بخار الماء والميثان والأمونيا والهيدروجين تحت تأثير شرارة كهربية مولدة بفعل جهد كهربي مقداره ٦٠٠٠٠ فولت مكونة بذلك أثاراً من بعض الأحماض الأمينية مثل الجليسين والانيين وألفا وبيتا والذي أشار إليه ميلر سنة ١٩٧٥ وبين منشأ الكائنات . ويدعي كاربنتر أنه في البداية تكونت مواد كربوهيدراتية ودهون وبروتينات ثم بدأت الحياة بظهور التركيبات النووية ...الخ من غير دليل ولا برهان وبتطبيق القوانين الإحصائية يؤول فرض الصدفة إلى الصفر والبديل الواجب الإيمان به هو أن الله هو الذي خلق كل الكائنات .

الصفات العامة للكائنات الحية الدقيقة

يقسم الله عز وجل في كتابه الكريم " فلا أقسم بما تبصرون [٣٨] وما لا تبصرون [٣٩] "الحاقة" فيضع أمامنا علماً عن أشياء لا نبصرها بالعين المجردة . وقد أمكن للإنسان بعد اكتشاف المجهر رؤية الكائنات الدقيقة التي لم يكن في مقدوره رؤيتها من قبل وعرف الإنسان منذ ذلك الحين أن هناك عالماً عظيماً من الكائنات غير المرئية بالعين المجردة تتعايش معه ولها من القدرات مثل ماله وإن كانت خلية واحدة وهذه القدرات تلخصها في ما يلي :

١- هضم وتمثيل الغذاء واستخدامه في الطاقة والنمو .
٢- التكاثر بالانقسام المباشر كما في البكتريا أو في جزء من دورة حياة الفطريات والأخيرة تكمل دورة حياتها بطور جنسي .
٣- التطفر لموائمة الظروف المتغيرة في البيئة .

٤- التخلص من النواتج الضارة والزائدة عن استخدامات الطاقة والنمو والتكاثر.

٥- تغيير الوسط الذى تعيش فيه بطريقة مباشرة أو غير مباشرة .

هذا وتتميز الكائنات الدقيقة بأن النظام الوراثى فى الكائنات بدائية النواة لا يحاط بغشاء يفصله عن السيتوبلازم ، وهو عبارة عن جزىء دائرى مكون من شريط مزدوج من الـDNA يتكاثر أو يتكرر عن طريق إنفراج Unwinding خيطى الحلزون المزدوج Double helix للـDNA ويأخذ كل طرف منهما فى تكوين خيط متكامل أمامه. والحلقة المقفلة هذه تعرف أحياناً بإسم الكروموسوم الدائرى وتمثل محتوياته من الجينات وحدة عبورية مفردة. أما الجهاز الوراثى فى الكائنات ذات النواة الحقيقية فتمتلك نواة يحيط بها غشاء نووى وأن هذه النواة تتكاثر أو تتكرر عن طريق الإنقسام غير المباشر Mitosis

والكروموسوم الدائري يكون خالياً من الهستونات Histones وهى بروتينات قاعدية والتى توجد بإستمرار وترتبط بالـDNA فى خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية.

غياب الأغشية المحددة للتراكيب السيتوبلازمية فى الكائنات ذات النواة البدائية حيث أن هذه الأغشية إن وجدت تكون إمتدادات من الغشاء السيتوبلازمى للخلية. وعلى ذلك فإن خلايا الكائنات ذات النواة البدائية لا تكون فجوات تخزينية Storage Vacuoles وبذلك فإن المواد المخزنة مثل الجليكوجين توجد حرة فى السيتوبلازم. كذلك فإن إنزيمات التنفس لخلايا الكائنات ذات النواة البدائية توجد فى الغشاء السيتوبلازمى فى حين أن مثل هذه الإنزيمات توجد فى خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية فى أجسام غشائية متخصصة داخل الخلية تسمى الميتوكوندريا. ويلاحظ أيضاً أن صبغات التمثيل الضوئى توجد فى الخلية النباتية داخل تراكيب تحاط بغشاء واضح هى البلاستيدات الخضراء.

الريبوسومات في الكائنات ذات النواة البدائية من النوع الصغير الحجم وغير موزعة على شبكة إندوبلازمية مثل ما يشاهد فى الكائنات ذات النواة الحقيقية. وثابت الترسيب لها 80 S Sedimentation constant ، أما الريبوسومات فى الخلايا ذات النواة البدائية فلها ثابت ترسيب 70 S .

الجدار الخلوى فى الكائنات ذات النواة البدائية يتميز بوجود مادة فريدة في تركيبها الكيماوي وهى عبارة عن الميوكوببتيد (Murein) Mucopeptide وهذا المركب لا يوجد فى جدر الخلايا ذات النواة الحقيقية. الأسواط التى تحملها الكائنات البروكاريوتية تختلف عن الأهداب التى تحملها الخلايا ذات النواة الحقيقية من حيث صفاتها المورفولوجية والكيماوية. الخلايا ذات النواة البدائية عاجزة عن تخليق المركبات الأستيرولية Sterols وليست كل الكائنات الدقيقة التى تعيش معنا تمتلك بذاتها كل ما ذكرناه من قدرات فهناك الأجسام الفيروسية التى هى أقل حجما وأصغر بكثير مما سبق وهى لا تقوم بهضم غذاء أو تمثيله أو استخدامه ولكنها تسيطر على الكائن العائل وجيناته وتوجهه لإكثارها وقد يؤدى ذلك إلى إهلاك العائل أو أنها تندمج معه وتكسبه صفات أخرى غير التى كان يمتلكها.

علوم الكائنات الحية الدقيقة

يعتبر علم الميكروبيولوجيا من العلوم الكبيرة المتفرعة وينطوى تحت هذا العلم العلوم الآتية :

١- الفطريات : ويتخصص هذا العلم فى دراسة الكائنات البدائية عديدة الأنوية الحقيقية التى لها طور جنسى ولها غزل فطرى ويدخل تحتها أيضا الخمائر وهى خالية من الكلورفيل .

٢- الطحالب : ويتخصص هذا العلم فى دراسة الكائنات الممثلة للضوء ذات النواة الحقيقية وهى مجموعة من الكائنات الغير متجانسة وحيدة الخلية أو عديدة الخلايا .

٣- البكتريا : ويتخصص هذا العلم فى دراسة الكائنات وحيدة الخلية التى تتكاثر بالانقسام المباشر ذات النواة البدائية متعددة الأشكال .
٤- الأكتينوميسيتات : ويتخصص هذا العلم فى دراسة البكتيريا ذات الأشكال الخيطية المتفرعة .
٥- الفيروسات : ويتخصص هذا العلم فى دراسة الجزيئات إجبارية التطفل التى لا تمتلك إمكانيات خلوية وليس لديها صفات الكينونة .

وتقسم علوم الكائنات الحية الدقيقة طبقاً للأهمية الاقتصادية إلى علوم الميكروبيولوجيا الطبية – الميكروبيولوجيا الصيدلية – الميكروبيولوجيا البيطرية – الميكروبيولوجيا الزراعية – الميكروبيولوجيا الصناعية – الميكروبيولوجيا العسكرية.

الكائنات الحية الدقيقة والأغذية

للكائنات الحية الدقيقة استخدامات غذائية ذات الأثر الاقتصادى الموجب كما أن لها وجهاً أخر له أثر اقتصادى سالب . والآثار الاقتصادية الموجبة لاستخدامات الكائنات الحية الدقيقة فى الغذاء هى على سبيل المثال :

١- الغذاء مثل فطريات عيش الغراب .
٢- صناعة اللبن الزبادى مثل بكتريا حمض اللكتيك .
٣- صناعة الحفظ مثل بكتريا حمض اللاكتيك .
٤- بعض الحالات المرضية مثل علاج عدم هضم الألبان .
٥- تحسين بروتين الحبوب .
٦- صناعة الخميرة للخبيز أو صناعة الكحول أو أعلاف الحيوانات .
٧- صناعة المنفحة البكتيرية .
٨- إنتاج الإنزيمات الميكروبية .
٩- إنتاج المواد الحيوية .
١٠- إنتاج السيفاديكس .

١١-صناعة الجيلى .

١٢-صناعة الكحولات والمذيبات العضوية .

أما الآثار السيئة المترتبة على الأثر الاقتصادى السالب والتى سوف نتناولها بالتفصيل فى هذا الكتاب فهى على سبيل المثال :

١- فساد للأغذية .

٢- تسبب أمراضا للإنسان والحيوان .

٣- تنتج سموم فى الغذاء تؤدى إلى عواقب وخيمة للمستهلك .

وسوف نتناول الجوانب الإيجابية والسلبية للكائنات الحية الدقيقة بشئ من التفصيل .

أولاً : الجانب الاقتصادى الإيجابى

يمكن ذكر بعض الإيجابيات للكائنات الحية الدقيقة كما يلى :

١- فطريات عيش الغراب *Mushroom*

يستخدم الفطر البازيدى من جنس أجاريكس مثل *Agaricus Campestris* و *bisporus* فى إنتاج هذا النوع من الغذاء الأدمى وينمى هذا الفطر (المشروم) Mushroom على المخلفات النباتية بعد تعقيمها وإضافة بعض الإضافات المناسبة مثل الجبس الزراعى وأملاح الفوسفات إلى المخلف الذى تم تعقيمه بالبخار فى أسبته ذات ثقوب كبيرة تسمح بالتهوية وفى بداية التحضين تغطى الأسبته بأكياس من البلاستيك المعقم حتى يتم نمو الغزل الفطرى ثم تمزق الأكياس البلاستيكية حتى تخرج الرؤوس الثمرية التى تستخدم فى الأكل وهذه الدورة تستغرق شهرين حتى الحصاد .

٢- بكتيريا حمض اللكتيك *Lactic acid bacteria*

يتم استخدام البكتريا من جنس لاكتوباسيلس Lactobacillus نوع بولجاريكس bulgaricus وكذلك من جنس ستربتوكوكاس Streptococcus

نوع لاكتيس lactis فى صناعة الزبادى ذلك النوع من الطعام المفضل والذى يتميز بقيمة غذائية عالية .

٣- بكتيريا المخللات *Bacteria of pickling*

استخدم التخليل كوسيلة للحفظ . كما سنتناول ذلك بالتفصيل فيما بعد. وبكتيريا المخللات تعتبر من بكتريا حمض اللاكتيك Lactic acid bacteria جنس لاكتوباسيلى نوع ديلروكى *Lactobacillus delruckii* وفى هذه الصناعة يوضع بعض المواد مع المخللات حتى لا تموت البكتريا من الحموضة .

٤- إنتاج إنزيم جلاكتوزيديز *Production of galactosidase*

وتستخدم هذه البكتريا فى إنتاج الإنزيم الذى يقوم بهدم سكر اللاكتوز الموجود باللبن وهو يساعد المرضى الذين لا يستطيعون إنتاج هذا الإنزيم من هضم الألبان .

٥- تحسين بروتين الحبوب *Improvement of cereal protein*

يفتقر بروتين الحبوب إلى بعض الأحماض الأمينية وقد أمكن بواسطة أنواع خاصة من البكتيريا إنتاج مثل هذه الأحماض ولكنها تنتجها بالكمية التى تحتاج إليها هى حيث توقف إنتاجها عند الوصول إلى الحد الذى تكتفى فيه منها وذلك بإطلاق نظام الكبح الإنزيمى الذى يوقف عملية تخليق هذه الأحماض وقد نجح كينوشيتا ١٩٥٦ فى عكس نظام الكبح وتمكن بواسطة طفرة معالجة بالإشعاع من إنتاج الليسين الغير موجود فى الدقيق وبإضافته ترتفع قيمة الدقيق الغذائية .

٦- صناعة خميرة الخبيز أو خميرة العلف *Feed and fooder yeast*

تعتبر هاتين الصناعتين من الصناعات ذات الأهمية الاقتصادية ويستخدم فى ذلك ميكروب الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وفى كل الأحوال تنمى هذه الخميرة تحت ظروف غير هوائية أولا لتنمية قدراتها

التخميرية ثم إكثارها تحت ظروف هوائية لإنتاج الكتلة الحيوية . ووظيفة الخميرة فى صناعة الخبز هى رفع العجين لإعطاء القوام الجيد وذلك نتيجة إنتاج ك أ٢ أثناء نموها فى العجين وإعطاء الخبز الطعم المميز له .

٧- صناعة المنفحة *Renin production*

المنفحة هى عبارة عن إنزيم يتم الحصول عليه من المعدة الرابعة للعجول الرضع يستخدم فى صناعة الجبن حيث يحول هذا الإنزيم اللبن إلى جبن . ولكن نظراً لنقص إنتاج اللحوم فإن القوانين والاتجاه السائد هو تربية العجول سنة أو سنتين للحصول على كميات أكبر من اللحوم . ونظراً لتضاعف إنتاج الجبن فإن هناك نقصاً فى كمية المنفحة الناتجة . وقد أمكن التغلب على ذلك بواسطة فطر قادر على إنتاج إنزيم له خواص المنفحة Renin like enzyme ويرجع الفضل فى ذلك إلى أيواسكاكى وكيمى أيرما ١٩٦٠ .

٨- إنتاج الإنزيمات الميكروبية

Production of microbial enzymes

من أهم الاستخدامات الحديثة للكائنات الحية الدقيقة هو إنتاج الإنزيمات الميكروبية وما له من أهمية قصوى فى الصناعات الغذائية والمنظفات الصناعية .

مثل إنتاج إنزيم البيتا جلاكتوزيديز من الخميرة والعوامل التى تؤثر فى نشاطه وإنتاج إنزيم الليبيز من فطر *Aspergillus fumigatus* وفطر *Rhizopus sp* والذى يستخدم كمعاون فى تحليل الدهون .

٩- إنتاج المواد الحيوية *Single cell protein production*

فى عام ١٩٦٨ تمكن شامبانيات من إنتاج بروتين وحيد الخلية (scp) من بقايا الزيت الخام وهذا البروتين له قيمة غذائية عالية وقد تم اختباره على

الدجاج . ولو أمكن تحويل البقايا المتاحة لأمكن توفير ٧٠٠ مليون طن سنويا ولا يحتاج ذلك إلى مساحة كبيرة من الأرض .

١٠- إنتاج السيفادكس *Production of cephadex*

هناك أنواع من الميكروبات من جنس Leuconostoc التى تنمو على السكروز وتقوم بإنتاج سلسلة سكرية طويلة تدخل فى تركيب مركب السيفادكس الذى يستخدم فى البحوث العلمية وتنقية البروتينات والإنزيمات وذلك بعد معالجتها كيماوياً ليصبح غير ذائب فى الماء .

١١- صناعة الجيلى

هناك أنواع من الميكروبات مثل Xanthomonas تنتج سكراً عديداً يستخدم فى صناعة الأيس كريم ويقوم هذا السكر بإعطاء قوام مطاط (جيلى).

١٢-المعالجة الميكروبية لزيت البترول

Microbial treatment of oil spills

قد تتلوث المياه بالبترول نتيجة لحوادث غرق ناقلات البترول العملاقة التى تتكرر سنوياً أو نتيجة لقيام هذه الناقلات بعمليات التنظيف وغسل خزاناتها. وإلقاء مياه الغسيل الملوثة فى عرض البحر أيضاً من أسباب تلوث مياه البحار بزيت البترول. كذلك يحدث عملية تلوث المياه بزيت البترول نتيجة تدفقه أثناء عمليات البحث والتنقيب عنه وذلك كما حدث في شواطيء كاليفورنيا بالولايات المتحدة الأمريكية وذلك فى نهاية الستينات وتكون نتيجة لذلك بقعة زيت كبيرة الحجم قدر طولها بثمانمائة ميل على طول مياه المحيط الهادى وأدى ذلك إلى موت أعداداً كبيرة من الدرافيل والأسماك والكائنات البحرية الأخرى نتيجة هذا التلوث. كذلك قد حدث مثل

هذا أثناء حرب الخليج فى منطقة الشرق الأوسط مما أدى إلى تلوث الميـاه وتدهور الثروة البحرية. وقد حدث هذا أيضاً فى شواطىء فرنسا.

وقد إستخدمت الحواجز الملاحية البلاستيكية أو المطاطية أو الخشبية أو إستخدام طريقة الإمتصاص بواسطة قش الأرز أو نشارة الخشب أو تـبن القمح. كذلك إستخدمت مواد كيماوية لكى ترتبط بالزيت حيث تصبح معلقـة فى الماء ليسهل التخلص منها أو تستخدم طريقة الإحتراق حيث يتم إشـعال النيران فى الزيت المتسرب والملوث للماء وكل هذه الطرق مكلفة وتحتـاج لوقت طويل ومجهود جهيد.

لذلك كان إستخدام الميكروبات من الأهميـة بمكـان حيـث تحمـل الميكروبات المستخدمة على مادة حاملة ثم تخلط ببقعة الزيت مما يعمل على تحليل الزيت وتكسيره فى وقت قصير كما حدث فى فرنسا منذ عدة سـنوات والميكروبات المستخدمة فى هذا العلاج هى :

Arthrobacter spp   *Rhodococcus spp*

Pseudomonas spp   *Candida spp*

١٣- إستخدام الطحالب فى الحد من الإحتباس الحرارى

Use of blue green algae in mitigating green house gases

تتفرد الكائنات الحية الدقيقة بمقدرة فائقة على التأقلم على الظـروف البيئية الصعبة والمتطرفة مثل درجات الملوحـة ، الحموضـة والقلويـة ، درجات الحرارة ، الضغط المرتفع علاوة على الظلام والإضاءة. مـن هنـا جاءت الأهمية فى إستخدام هذه الكائنات الحية الدقيقـة فـى حـل وعـلاج المشكلات البيئية مثل مشكلة الإحتباس الحـرارى. ومـن أهـم الكائنـات المستخدمة فى الحد من هذه الظاهرة هى الطحالب الخضراء الزرقة والتـى تسمى بالسيانوبكتريا مثل أجناس :

Anabaena, Nostoc, Prochlorococcus, Synechococcus

وتمثل هذه البكتيريا نسبة كبيرة من الكتلة الحيوية فـــى المســـطحات المائية حيث تقوم بعملية البناء الضوئى وتستهلك كمية كبيرة من ثانى أكسيد الكربون وتنتج كمية كبيرة من الأوكسجين حيث ترسب ثانى أكسيد الكربون على هيئة كربونات الكالسيوم حيث لا يعود ك أ٢ مـــرة أخـــرى للغـــلاف الجوى.

وظاهرة الإحتباس الحرارى هى عبارة عن حبس حرارة الشمس من الأرض عن طريق مجموعة من الغازات أهمها ثانى أكسيد الكربون الناتج من بعض الأنشطة مثل البيوت الزجاجية Green house gases.

١٤- العلاج الميكروبى للملوثات العضوية

Microbial treatment of organopollutants

تعتبر مشكلة التلوث البيئى بالمركبات العضـــوية مـــن المشـــكلات الخطيرة التى تهدد حياة الأحياء على سطح الكرة الأرضية خاصة مع التقدم الصناعى الهائل وكذلك فى ظل الحروب التى تجرى فى منـــاطق متفرقـــة وتخلف دماراً هائلاً متمثلاً فى كم النفايات والكيماويات التى تتخلف عنها.

ينتج فى الولايات المتحدة الأمريكية حـــوالى ٣٧ بليـــون كجـــم مـــن المركبات العضوية السامة وتتكلف حوالى تريليون دولار لمحاولة تقليل هـــذه الملوثات فى المناطق الملوثة بالطرق التقليدية ، وتعـــد الملوثـــات العضـــوية الأرومانية من أخطر هذه الملوثات مثل الـــــ DDT, BTEX, TNT & PAH حيث تحتوى على أكثر من حلقة مما يصعب عملية تحليلها ويزيد من ثباتها فى التربة هذا بالإضافة إلى وصولها عبر السلسلة الغذائية إلى الإنسان والحيـــوان وما يترتب عليها من تأثيرات مسرطنة ومطفرة. لذلك كان مـــن الضـــرورى البحث عن طريق أسرع وأقل تكلفة وأكثر فاعلية فى معالجة هـــذه الملوثـــات وكان العلاج الحيوى والذى تزايد الإتجاه إليه فى الأونة الأخيرة وهى طريقـــة

تستغل فيها الكائنات الحية الدقيقة وأنشطتها المختلفة فى معالجة هذه المشكلات وفى الكثير من الأحيان القضاء عليها نهائياً وقد جـذبت الفطريـات بخاصـة الإهتمام لما لها من مميزات وخصائص جعلتها أكثر فعالية فى هذا الصدد.

ولقد تعددت العمليات التى يتم إسـتخدام الكائنـات الحيـة الدقيقـة والأنشطة المرتبطة بها فى التخلص من الملوثات العضوية السابقة فى التربة والماء وذلك من خلال تمثيلها إلى مركبات أقل تعقيداً وأقل سـمية أو عـن طريق معدنتها إلى عناصر معدنية وثانى أكسيد الكربون وماء تحت الظروف الهوائية أو غاز الميثان تحت الظروف اللاهوائية. وقد درست مقدرة كل من البكتريا والفطريات فى تحليل مدى واسع من الملوثات البيئية كما وجـد أن معدل عملية التحليل تعتمد على عوامل عديدة منها درجة الـpH ، الحرارة ، التهوية ، المجتمع الميكروبى ، توافر المغذيات والتركيب الكيميائى للمركبات الملوثة. والعلاج الحيوى للملوثات بواسطة الفطريات جذبت إنتبـاه العلمـاء خلال العقدين الماضيين وذلك لكفاءة الفطريات فى هذا الدور.

ولقد تم إختيار الفطريات أكثر من الميكروبات الأخرى لأن السمية للعديد من المركبات السابقة تحد أو تضعف قدرة البكتريا على تحليلها بينمـا الفطريـات تصمد أما المستويات العالية من السموم. وأيضاً تعتبر طريقة النمو الخيطى المتفرع للفطريات يسمح لها بالوصول إلى أماكن التلوث فى التربة. هذا علاوة علـى أن بعض نواتج التحليل البكتيرى قد تتضمن مركبات لها سمية المركب الأصلى.

١٥- إستخدام البكتريا فى المقاومة البيولوجية

Use of bacteria in biological control

لقد أدى الإفراط فى إستخدام المبيدات الزراعية إلى عواقب وخيمـة من شأنها الأضرار بالبيئة سواء التربة أو المياه أو المحاصيل الزراعيـة – لذلك كان لزاماً علينا البحث عن طرق بديلة لمقاومة الآفات.

وتعتبر المقاومة البيولوجية للطفيليات الممرضة والتي تعني خفض كثافة الأنشطة المرضية لتلك الطفيليات في مرحلة سكونها أو نشاطها بواسطة كائن حي أو أحد مكوناته والذي يطلق عليه كائن مضاد ، ويتحقق ذلك بطريقة غير مباشرة من خلال تنشيط الكائنات المضادة الموجودة في التربة من خلال معالجات مختلفة أو يتم ذلك من خلال إضافة واحد أو أكثر من تلك الكائنات المضادة إلى تربة الطفيل أو زراعة نباتات معينة قادرة على إنتاج مركبات مثبطة أو سامة للطفيل المرضي.

وتهدف المقاومة البيولوجية إلى تقليل شدة أو حدوث المرض النباتي وذلك بإنقاص أو خفض كثافة أعداد الطفيل الممرض وتقليل عدوى العائل النباتي بالطفيل ، أو بمعنى آخر إنقاص مقدرته على إحداث المرض. ويجب الإيضاح أن المقاومة البيولوجية لا تعمل على إستئصال الطفيل الممرض ولكنها تعمل على الحد من تواجده وإنتشاره مما يؤدي إلى تقليل حدوث المرض النباتي بدرجة كبيرة. وتعتبر البكتريا من أهم الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في هذا المجال وذلك لسرعة تكاثرها ونموها ، قدرتها على إستخدام أشكال مختلفة من المواد الغذائية ، مقدرة أنواع منها على النمو في غياب O_2 وهذا يتيح إستخدامها في المقاومة البيولوجية تحت الظروف اللاهوائية.

تتميز بعض الأجناس الرئيسية في التربة مثل بعض الأنواع التابعة لجنس *Bacillus* بالمقدرة على إنتاج جراثيم داخلية وهذه الجراثيم تكون أكثر مقاومة ممن الخلايا الخضرية للحرارة والمواد الكيماوية السامة والجفاف مما ينعكس بالتالي على طول مدة بقاء البكتريا في حالة حية. الأجناس ذات الأهمية في المقاومة البيولوجية مثل الجنس *Bacillus* تمتلك بعض أنواعها أسواط تساعدها على الحركة في فراغات التربة المليئة بالماء وبذلك يمكنها الوصول إلى بعض الفطريات الممرضة للنباتات ذات الطبيعة المائية مثل

فطريات جنس *Phytophthora*. عدد من الأنواع البكتيرية لها القدرة علـــى إنتاج مضادات حيوية لها تأثير مثبط أو قاتل للكائنات الدقيقة الأخرى.

أثبتت الأبحاث معيشة بعض الأنواع داخل أنسجة العائل دون إحداث ضرر لها حيث تدخل عن طريق الجروح أو الأسطح المقطوعة مثل الدرنات ثم تحمل إلى أعلى حيث تتمركز فى أوعية الخشب وهـــذا الموقـــع يعطـــى مقاومة للعائل ضد فطريات الذبول الوعائى ، ولـــذلك فـــإن غمـــر درنـــات البطاطس قبل زراعتها في محلول أحد هذه البكتريا مثل البكتريا *Bacillus megaterium* يمكن أن يعطى مقاومة بيولوجية ضد أمراض الفيوزاريـــوم. ومن أشهر البكتيريا المستخدمة في هذا الصدد الأسماء الآتية :

Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas spp., Pseudomonas putida, Agrobacterium radiobacter, Bacillus spp., Erwinia radiobacter, Streptomyces spp., Pasteuria penetrans.

١٦- إنتاج المواد السطحية الحيوية ميكروبيا :

Microbial production of biosurfactants

المواد السطحية عبارة عن مركبات حيوية تنتجها الميكروبات ، وهـــى تتركب من جزيئات تحتوى على جزء محب للماء (إمـــا أحمـــاض أمينيـــة أو ببتيدات أو سكريات عديدة) وآخر كاره للماء (أحماض دهنية) وهى ذات أوزان جزيئية مختلفة (منخفضة أو مرتفعة) وتتميز بنشاط ســـطحى عـــالى ، وهـــذه الخصائص تجعلها قادرة على خفض التوتر السطحى بين الأسطح فى كل مـــن المحاليل المائية والمخاليط الهيدروكربونية وتكوين مســـتحلبات دقيقـــة ، وذلـــك يمنحها خصائص جيدة ومن أهم مميزات المواد السطحية الحيويـــة عـــن تلـــك المخلقة كيماوياً بعدة مميزات أهمها قلة سميتها وتنوعها وقابليتها للتحليل الحيوى هذا علاوة على إمكانية تخليقها من خلال عمليات التخمير وبكميات كبيرة كذلك

لها تطبيقات ذات كفاءة عالية فى حماية البيئة بجانب إستخدامها فى نواحى صناعية كثيرة مثل إستخلاص الوقود الخام والعناية بالصحة وعمليات التصنيع الغذائى كذلك فهى ذات نشاط نوعى عالى فى مدى واسع من درجات الحرارة العالية والـــpH والملوحة ويمكن إنتاجها باستخدام المخلفات الزراعية الرخيصة.

١٧- الإحساس الحيوى والبيئة *Biosensor and environment*

من أهم الجوانب الإقتصادية الإيجابية للكائنات الحية الدقيقة هو إستخدامها فى مراقبة البيئة وعناصرها المختلفة حتى يسهل معالجة أوجه القصور والحفاظ على البيئة نظيفة Keep it clean. حيث أنه بعد سنوات عديدة من التطور التكنولوجى بدأت عناصر الإحساس الحيوى فى الإنتقال من المعامل إلى التطبيقات التجارية حيث ظهرت أهميتها فى التكنولوجيا الحيوية ، Nanotechnology، Information processing وكل هذه وسائل حديثة واعدة تفتح الباب لمراقبة العديد من الملوثات البيئية وهى ما تسمى بالـــ Biosensors هذا ولقد تنوعت أنواع الإحساس الحيوى مثل :

Enzyme biosensor, Microbial biosensor, Amperometric biosensor, Potentiometric biosensor, Conductance biosensor and Optical biosensor.

ثانيا : الجانب الإقتصادى السلبى

١- التلوث الغذائي البكتيرى Bacterial food contamination

يعتبر التلوث الغذائي هو الأثر السلبى الواضح على الإنسان حيث بينت التوابع الصحية للتلوث عن تقرير منظمة الصحة العالمية (الصحة والبيئة) ١٧ نوعاً من البكتيريا وثلاثة أنواع من الفيروسات وأربعة أنواع من الحيوانات الأولية وأربعة أنواع من الديدان ضمن الممرضات التى تحملها

المواد الغذائية وقد تخلصت الدول المتقدمة من الأوبئة كـالتيفود والملاريـا والطاعون ولكن الأمراض المتصلة بتلوث الغذاء قد زادت.

هذا بالإضافة إلى تلوث الغذاء بالهرمونات التى تسـتخدم فـى تطعـيم الحيوانات وعلاجها وكذلك المضادات الحيوية فى مزارع التسمين وهى قد تسبب أضراراً صحية للإنسان نتيجة تراكمها فى الجسم نتيجة تناول الأغذية على فترات طويلة. هذا ناهيك عن تلوث الغذاء ببقايا المبيدات التى تستخدم فى الزراعة التـى قد تسبب الضرر السريع أو المتراكم من إضعاف جهاز المناعـة أو الخلـل فـى الجهاز العصبى أو إلى الإصابة بالسرطان والفشل الكلوى والكبدى المتسبب مـن الإصابة بالفيروسات المتخصصة لإصابة هذه الأعضاء فى الإنسان.

٢- السموم البكتيرية والبيئة Bacterial toxins and environment

لا يخلو أى غذاء يتناوله الإنسان من الميكروبات حيث تحتوى الأغذية من مصادرها الطبيعية على الميكروبات ، كما تتعرض للتلوث أثناء تـداولها ونقلها وتصنيعها. ويؤدى وجود الكثير من الميكروبات فى الأغذية إلى فسادها أو إفراز سموم بها مسببة لأمراض التسمم الغـذائى (food poisoning) كمـا تنتقل بعض الميكروبات الممرضة عن طريق الأغذية مسببة لبعض الأمراض للإنسان. وتعتبر اللحوم والدواجن ومنتجاتها من الوجبات الجاهزة من الأغذية المفضلة لدى المستهلكين لسهولة تجهيزها ولطعمها المستساغ ولقيمتها الغذائية العالية لما تحتويه من نسبة عالية من البروتين الغنـى بالأحمـاض الأمينيـة الأساسية والأملاح المعدنية ، فهى تتعـرض أيضـاً للتلـوث بالميكروبـات الممرضة مما يجعلها خطراً على صحة الإنسان ومن هذه الميكروبات الشائعة التى تتواجد على اللحوم ومنتجاتها أجناس بكتيرية مثل :

Listeria , *Staphylococcus* , *Pseudomonas* بالإضـافة إلـى أفـراد مجموعة القولون.

ومن أخطر هذه السموم نجد ما هو يسبب التسمم العنقودى Staphylococcal poison مثل ميكروب Staphylococcus aureus والمسبب لمرض Salmonellosis مثل *Salmonella spp* والمسبب لليستريا Listeriosis مثل Listeria monocytogenes ومرض الجمرة الخبيثة Anthrax ويسببه بكتريا *Bacillus anthracis* وهذه الأخيرة من الأهمية بمكان نظراً لما لها من صور مختلفة مثل الجمرة الجلدية Cutaneous والجمرة الرئوية Inhalation وكذلك الجمرة المعوية Gastrointestinal anthrax.

٣- التسمم بفطريات عيش الغراب Poisoning by Mushroom toxins

يلعب نوع الفطر المستخدم فى الطعام وكمية الثمار المأكولة دوراً رئيسياً فى ظهور الأعراض على من يتناول هذا النوع من الطعام. وحيث أن التركيب الكيماوى لكثير من سموم فطريات عيش الغراب غير معروف حيث أن تعريفها بشكل إيجابى فى الغالب يكون من الأمور الصعبة أو المستحيلة ، لذلك فإن التسمم بفطريات عيش الغراب يتم تعريفه وتصنيفه على أساس تأثيراتها الفسيولوجية. وكذلك قامت كثير من الأبحاث بدراسة سموم عيش الغراب والتى أمكن تقسيمها إلى أربعة مجموعات categories هى :

١- سموم بروتوبلازمية Protoplasmic toxins

وهى السموم التى ينتج التسمم عنها نتيجة تحطيم الخلايا ثم يليها فشل الأعضاء فى أداء وظائفها الطبيعية المعتادة.

٢- سموم عصبية Neurotoxins

وهى السموم والمركبات التى تظهر أعراضاً عصبية مثل الغيبوبة والإضطراب والهلوسة والهيجان والكسل والخمول والضعف العام.

٣- سموم معوية Gastrointestinal toxins

تعتبر سموم ومركبات هذه المجموعة من السموم التى ينـــتج عــن تناولها وبشكل سريع الشعور بالغثيان ، القيـــىء ، التشـــنجات ، الإســـهال والهبوط العام.

هذا ويتوفر فى الوقت الـــراهن الإختبـــارات الإكلينيكيـــة الســـريعة لتشخيص سموم فطريات عيش الغراب الخطيرة جداً مثل سموم Amanitins وهى من السموم الخطيرة حيث يتم الكشف عن السم فى البول أو بلازما الدم ويحتاج الكشف عن هذا السم لفترة تحضين قد تصل إلى ساعتين ، كمـــا أن الأعراض قد تظهر على الإنسان الذى أصيب بالتسمم بعد يـــوم أو إثنـــين. كذلك يتم الكشف عن هذا السم بإستخدام تكنيك الــــHPLC وهـــى طريقـــة سريعة وحساسة ونظراً لعدم توفر معظم الطرق المستخدمة فى الكشف عـــن سموم فطريات عيش الغراب فإن تشخيصها يعتمـــد بشـــكل كامـــل علـــى الأعراض والتاريخ الغذائى للإنسان تحت الفحص.

٤- السموم الطحلبية والبيئية Cyanotoxin and environment

تعتبر الطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae والتى تسمى أيضاً بالــ Cyanobacteria من الكائنات الحية الدقيقة الممثلة للضوء وتقوم أيضاً بتثبيت نيتروجين الهواء الجوى كما أنها تستخدم كلقاح فى الأراضـــى المنزرعة بالأرز. ويوجد بعض من الطحالب التى لها تأثيرات سلبية وغيـــر مرغوب فيها على البيئة المحيطة بالطحلب حيث تنمو وتنتج مركبات ثانوية أيضية ذات الأثر السام والقاتل والتى تسمى بالسموم الطحلبية. ومن ثم تعتبر هذه النواتج الثانوية ذات تأثير سلبى على جودة المياه مـــن حيـــث الطعـــم والرائحة ناهيك عن التأثير السام إذا تم إستخدامها ، سواء بواسطة الإنســـان أو الحيوان أو الطير ومن ثم الثروة البحرية والبرية. وقد أثبتت الدراســـات

المستقيضة وجود نوعين من هذه السموم نوع منها يسبب الموت البطيء حيث يسبب موت الكائن الحى خلال ٤٨ ساعة وهذه السموم تفرزها الخلايا الطحلبية الحية. أما النوع الأخر فهو سريع القتل حيث يسبب القتل خلال ٤ ساعات وهذه السموم تصل لمصادر المياه نتيجة تحلل الخلايا الطحلبية. ومن أهم الأجناس الطحلبية السامة :

Anabaena spp., *Nostoc spp.*, *Oscillatoria spp.*, *Microcystis spp.* and *Nodularia spp.*

٥- الحرب الميكروبية Microbial warfare

إستغل الإنسان قدرة الميكروبات على إحداث الأمراض - فقام بتجنيدها فيما نطلق عليه الحرب الميكروبية (الجرثومية) Microbial or germ warfare وهى نوع من الحروب المدمرة للحياة توظف فيها الميكروبات أو سمومها لقضاء على الإنسان وحيواناته ومزروعاته الإقتصادية. مثال ذلك ما حدث فى نهاية عام ٢٠٠١ حيث وجد ٢٢ حالة من Anthrax تم إرسالها عن طريق البريد إلى الولايات المتحدة تم تشخيصها و تصنيفها فى ١١ حالة جلدى و ١١ حالى إستنشاقى. ويعتبر Anthrax من الأمراض المشتركة بين الحيوان والإنسان يصيب الحيوانات الأليفة والبرية ثم ينتقل إلى الإنسان. ويستخدم *Bacillus anthracis* كسلاح بيولوجى سواء فى عمليات إرهابية أو فى الحروب البيولوجية حيث توفى ٥ أفراد أصيب العشرات بعدوى المرض بعد تسلم خطابات ملوثة بجرثومة الجمرة الخبيثة فى الولايات المتحدة فى عام ٢٠٠١ أثناء حرب الحلفاء على العراق Allied war on Iraq

الفصل الثانى :

الفيروسات

الفيروسات

Viruses

يعتبر الفيروس من المسببات المرضية المعدية ، ويعرف العلم الذى يدرس النواحى المختلفة لهذه المسببات بـالفيرولوجى Virology أى علـم الفيروس . والفيروس يعتبر هو المسبب المرضى المسئول عن أكثـر مـن نصف الأمراض المعدية والوبائية التى تصيب الإنسان ومئات الأمراض التى تصيب الحيوان والنبات . أهم الفيروسات مـن الناحيـة الإقتصـادية هـى فيروسات البكتيريا وأهمها ما يصيب البكتيريا النافعة حيث تؤدى إصـابتها بالفيروس إلى خسائر إقتصادية خاصة فى الصناعات الكيماوية والغذائية التى تعتمد على البكتيريا أو بكتيريا التربة النافعة . هاذ ويرجع أكتشاف الفيروس كمسبب مرضى إلى العالم الروسى Ivanowski عام ١٨٩٢ نتيجة لتجاربـه على عصير نبات الدخان المصاب واستخدامه فى عدوى نباتات سليمة والتى سببت مرض البرقشة أو موزيك الدخان TM .

وتعرف الفيروسات بأنها عبارة عن جسيمات متناهية فى الصـغر ، وترى بالميكروسـكوب الضـوئى العـادى ويمكـن مشـاهدتها بواسـطة الميكروسكوب الإلكترونى وتتميز الفيروسات بأنها لا تنمو مترممـة علـى المواد العضوية الميتة ولا على البيئات الغذائية المصـنعة ولكنهـا متطفلـة إجبارياً ، لا نمو إلا على نسيج حى سواء كان من نبات أو حيوان أو إنسان أو بكتيريا أو داخل العائل القابل للإصابة بها . وهى متخصصة فى العائـل الذى تصيبه بدرجة عالية .

ويعتبر الفيروس على هامش الحياة ففى وجوده خارج الخليـة الحيـة يشبه مادة صغيرة غير حية عادة لا تتحرك خاملة Inert تفتقر إلى الإنزيمات وإلى القوة الخاصة بالتضاعف . أما عند إلتصاقه بالخلية ودخوله فانه يصـبح

حياً ويبدأ فى نشاطه للعملية الأساسية ألا وهى التضاعف ويقال تضاعف وليس تكاثر لأن العملية الأخيرة وهى التكاثر من صفات الكائن الحى القادر على التكاثر بمفرده . وللفيروس علاوة على ذلك خاصية وراثية مميزة وعلى ضوء ما سبق فإن الفيروس يشبه الأجسام الأخرى التى تتضاعف وتحتفظ بكيانها الوراثى Genetic integrity ويمكن أن ينظر إليه كجسم يعتمد كثيراً على مساعدة الخلايا الحية التى تمده بأساسيات النمو والتضاعف.

ويتراوح حجمها بين ١٠ – ٣٠٠ ملليميكرون وهى أجسام متطفلة حتماً وممرضة للإنسان والحيوان والنبات والبكتيريا حيث يستطيع الجينوم الخاص بها المكون من الحامض النووى التحكم وإستخدام القدرات التمثيلية لخلايا العائل لصالح تكاثر الفيروس حيث تتكاثر أو تتزايد فى العدد فى وجود العائل المناسب . وتقسم الفيروسات على أساس العوائل التى تصيبها إلى الآتى:

١- فيروس البكتيريا **Bacteriophagineae**

ويرجع الفضل لإكتشاف هذه المجموعة الفيروسية إلى العالم الإنجليزى Twort عام ١٩١٥ حيث لاحظ تحلل بعض المزارع البكتيرية بدون سبب معروف أنذاك . وهذه المجموعة هى المتطفلة على البكتيريا وتسمى بكتيريوفاج Bacteriophage وهى تسبب كثيراً من المتاعب فى الصناعات الميكروبيولوجية التى تعتمد على سلالة نقية من البكتيريا مثل صناعة بعض أنواع الجبن وصناعة الزبادى وكذلك صناعة الخمور والخل ومن أمثلة هذه الفيروسات . فيروس بكتيريا القولون *E. coli* t1-t7 وفيروس بكتيريا الدوسنتاريا وتسمى لاقمات أو آكلات البكتيريا وكذلك يوجد من الفيروسات ما يصيب الأكتينوميسيتات ويسمى Actinophage كما يوجد فيروسات تصيب الخميرة وفيروسات تصيب الفطر والطحالب والبروتوزوا .

٢- فيروس النبات Phytophagineae

وهو الفيروس المتطفل على النبات ويسبب لها كثير من الأمـــراض الخطيرة مثل فيروس الموزايك Mosiac virus وفيروس الإصفرار Yellow virus وفيروسات النيكروزيس Necrotic virus وفيروسات التبقع الحلقـــى Ring spot virus وأمراض إلتفاف الأوراق وغيرها .

٣- فيروس الحيوان Zoophagineae

وهو الفيروس المتطفل على أفـــراد المملكـــة الحيوانيـــة كالإنســـان والحيوان والحشرات والأسماك والطيور ويسبب لها أمراضاً وبائيـــة مثـــل الحصبة Measles وشلل الأطفال Poliomelitis وجدرى الإنســـان Small pox والأنفلونزا Influenza والحمى الصفراء Yellow fever والبرد العادى Common cold . وأيضاً من أمراض الحيوانات الفيروسية مرض الكلـــب Rabies والذى يمكن أن ينتقل إلى الإنسان والحمـــى القلاعيـــة Foot and mouth disease ، وجدرى الأبقار Cow pox وطـــاعون الـــدجاج Fowl plague . وتصيب الفيروسات الحشرات أيضاً مسببة أمراضاً مثـــل شـــلل شغالات النحل Paralysis of bees ، تكييس الحضـــنة Sac broad of bees وأمراض إصفرار الحشرات ومنها مرض إصفرار ديدان الحريـــر . ومـــن الفيروسات ما يصيب الأســـماك مســـبباً أمراضـــاً منهـــا جـــدرى الســـمك Epithelium of barbus carp pox . وفيروسات تصـــيب الـــدواجن مثـــل فيروس أنفلونزا الطيور H5N1 الذى يتبع عائلة orthomyxoviridae الذى يكمن فى دماء الطيور ولعابها وأمعائها وتخرج فى مخلفاتها .

ومن الناحية المورفولوجية تقسم الفيروسات إلى ثلاثة مجوعات هى فيروسات عصوية أو خيطية Filamentous ، وفيروسات مكعبـــة الشـــكل

Cubic like shape وأخرى متعددة الأوجه Polyhedral shape وهى الأكثر تعقيداً فى التركيب .

خواص الفيروس Characteristics of virus

تعتبر صفة صغر حجم الفيروس حيث لا يرى بالميكروسكوب العادى المضئ ويمر خلال المرشحات البكتيرية صفة مميزة له عن باقى المسببات المرضية . ولكن ظهر أن هناك أجسام أخرى غير الفيروسات يمكنها أن تمر خلال المرشحات التى تحجز البكتيريا مثل أجسام L-Forms of bacteria وحتى يكون أى تعريف للفيروس أقرب إلى الصواب لابد وأن يشمل على صفتين الأولى هى أن الفيروس صغير الحجم لا يرى بالميكروسكوب الضوئ العادى ولكن يمكن رؤيته عن طريق بالميكروسكوب الإلكترونى والثانية هى أنه يتضاعف أو يتناسخ داخل الخلايا الحية فقط وشديد التخصص . لكل فيروس نسيج خاص يستطيع النمو والتضاعف فيه ويختلف الفيروس عن الريكتسيا التى هى متطفلة إجبارياً إلا أنها أكبر حجماً من الفيروس . ويتركب الفيروس من بروتين وحمض نووى، وليس للفيروس القدرة على التضاعف على بيئة غذائية صناعية ولكن التضاعف والتجمع والسلوك ودورة الحياة للفيروس تكون داخل جسم العائل القابل للعدوى أو النسيج الحى.

قياس حجم الفيروس Measurement of virus size

يقاس حجم الفيروس بالملليميكرون وتختلف الفيروسات من حيث الحجم فنجد أن فيروس شلل الأطفال قطره ٣٠ ملليميكرون وفيروس الحمى الصفراء قطره ٢٠ ملليميكرون وفيروس الحمى القلاعية قطره ١٠ ملليميكرون . ونظراً لدقة حجم الفيروسات وصعوبة قياس حجمها فإنه تستخدم طرق خاصة لدراسة حجمها مثل التصوير بالميكروسكوب

الإلكترونى وبمعرفة قوة التكبير يمكن تحديد حجم الفيروس . كذلك استخدام أجهزة الطرد المركزى فائقة السرعة وبمعرفة السرعة التى يترسب عليها الفيروس يمكن معرفة حجمه . أو إستعمال أغشية ذات ثقوب معروفة القطر حيث أن الفيروس يمر خلال مرشحات البكتيريا لذلك إتجه التفكير إلى استعمال مرشحات ذات ثقوب بأقطار مختلفة يمكن بواسطتها تقدير وقياس حجم جزيئات الفيروس . أو باستخدام الأشعة السينية (أشعة X) .

شكل الفيروس Morpholog of virus

أمكن تحديد شكل والتركيب البنائى للفيروس بواسطة المعلومات التى تم الحصول عليها نتيجة لإستعمال الأشعة السينية وأجهزة الطرد المركزى فائقة السرعة وبإستخدام الميكروسكوب الإلكترونى ، ولقد أصبح الميكروسكوب الإلكترونى مهم جداً لدراسة الفيروس .

ويختلف شكل وحجم فيروسات الحيوان والبكتيريا والنبات إختلافاً بيناً وكقاعدة عامة فإن فيروس الحيوان يكون كروياً ، بينما يشبه فيروس البكتريا شكل الحيوان المنوى حيث يكون الشكل ذو رأس عديدة الأوجه وذنب . أما فيروس النبات فهو ذو شكل عصوى وأن بعض الفيروسات تكون صغيرة الحجم تظهر متناسقة لدرجة أنها تظهر على هيئة بلورات أى أن لها صفة التبلور مثل فيروس شلل الأطفال وفيروس موزيك الدخان (TMV) . كما أن جزيئات الفيروس الواحد متساوية فى الحجم الأمر الذى يؤدى إلى استعمال هذه الصفة فى تقسيم الفيروسات المختلفة فنجد أن فيروسات مجموعة الجدرى ذات جزيئات متشابهة وكذلك مجموعة الإنفلوانزا وكذلك يوجد إختلاف داخل المجموعة الواحدة فى العرض وفى الطول وفى درجة المرونة أيضاً .

يتكون البكتريوفاج من رأس Head غالباً ما تكون سداسية الشكل متعددة الأوجه Polyhedral head وهى عبارة عن غشاء رقيق من البروتين يوجد بداخله الحامض النووى DNA . أما الذيل فإنه عبارة عن أنبوبة من البروتين بها إنزيم خاص وينتهى الذيل بوسادة يخرج منها خيوط متخصصة للإلتصاق بمراكز الإستقبال الموجودة بسطح الخلية العائل حيث يوجد بها تخصص عالى . ووجود البكتيريوفاج فى التربة الزراعية قد يكون أحد العوامل المؤثرة على إنتشار ونمو بعض أنواع من البكتيريا الهامة فى التربة الزراعية خاصة البكتيريا المثبتة لأزوت الهواء الجوى التكافلية *Rhizobium* sp. وأيضاً اللاتكافلية مثل الأزوتوباكتر *Azotobacter* sp. والكلوستريديم *Clostridium* sp. وكذلك بكتيريا التأزت Nitrifing bacteria .

تبدأ الإصابة بالبكتيريوفاج بإلتصاق خيوط الذيل بمراكز الإستقبال بجدار خلية البكتيريا ويخرج من الخيوط الإنزيم القادر على مهاجمة روابط كيميائية معينة بمراكز الإستقبال فيحللها ثم يندفع الحمض النووى للفيروس خلال الجدار إلى سيتوبلازم الخلية . وبعد ذلك ينفصل الغلاف البروتينى أولاً عن خلية البكتيريا ، ثم يقوم الحمض النووى للفيروس بتعديل المعلومات الوراثية فى سيتوبلازم خلية البكتيريا لتقوم بعملية البناء الخاصة بالحمض النووى للفيروس وتناسخه أو تضاعفه وبذلك يتم تسخير خلية البكتيريا لحساب الفيروس وبناء أفراده .

وعلى ذلك فإنه عندما يغزو البكتيريوفاج خلية البكتيريا المتخصصة له فإنه يتضاعف أو يتناسخ بها بشدة وأخيراً يحدث تحلل Lysis للخلية البكتيرية وتنطلق منها فيروسات جديدة قادرة على إحداث العدوى لخلايا أخرى من نفس النوع أو تبقى ساكنة بالتربة إذا لم تجد النوع البكتيرى المتخصصه له . ويمكن مشاهدة أثر هذه الفيروسات على البكتيريا بتلقيح هذه البكتيريا فى بيئة أجار فى

طبق بترى وبعد النمو يضاف الفيروس المناسب وبعد فترة تشـــاهد منـــاطق خالية من النمو تسمى plaques نتيجة تحلـــل الخلايـــا البكتيريـــة بواســـطة الفيروس، ويمكن الحصول على البكتيريا والفيروسات خلال أحد المرشـــحات البكترية حيث أن الفيروسات كما هو معروف تمر خلال المرشحات البكتيرية.

تركيب الفيروس Structure of virus

لقد أظهرت الدراسات باستعمال أشعة X والميكروسكوب الإلكترونـــى تناسق جزيئات الفيروس من حيث الشكل والحجم.ولن معظم الفيروسات عبارة عن حمض نووى DNA أو RNA محاط بغلاف أو كبسولة مـــن البـــروتين تسمى Capsid والتى تتكون من وحدات بنائية تســـمى Capsomers يكـــون عددها ثابت فى أى فيروس ويشكل الإثنان معاً نيوكليوبروتين أى أن جـــزئ الفيروس فى أبسط صوره ما هو إلا نيوكليوبروتين .

وتطلق كلمة Virion على الجزيئات التامة الكاملة للفيروس والحاملـــة لصفة العدوى ، وكما سبق القول فإن الحمض النووى الـــذى يكـــون الجـــزء الداخلى للـــVirion إما أن يكون DNA أو RNA وليس الإثنين معاً . بينمـــا يكون البروتين الجزء الخارجى ، وربما تختلف قليلاً بعض الفيروسات فمـــثلاً نجد فى فيروس الإنفلوانزا أن الجزء الداخلى يتكون من مخلوط مـــن حمـــض نووى وبروتين . وأحياناً نجد غلافاً حول البـــروتين يتكـــون مـــن الـــدهون والبروتين وأحياناً يكون معها الكربوهيدرات .

ويعتبر بروتين الفيروس من بروتينات الجلوبيولين التى تكون مرتبـــة فى سلاسل ببتيدية تختلف فى عددها وطولها ووزنها الجزيئى طبقاً لإخـــتلاف الفيروسات نفسها وتحتوى الفيروسات التى تصيب النبات على حمض نـــووى RNA بينما تحتوى فيروسات الحيوان على حمض نووى DNA أو RNA أما الحمض النووى للبكتيريوفاج فهو DNA . وتعتبر الـــدهون مـــن المكونـــات

المهمة للفيروس بعد البروتين والحمض النووى ويختلف نوع الدهن باختلاف الفيروس . وقد وجدت بعض المكونات الأخرى فى تركيب بعض الفيروسات فمثلاً وجد نشاط إنزيمى فى تحضيرات بعض الفيروسات مثل الإنفلونزا .

وتتركب الفيروسات من جزيئات من الأحماض النووية والبروتينات ذات قدرة على التواجد بمفردها أو بشكل بلورات تتركب من عدة ملايين أو فى بعض الأحيان عدة بلايين من الجزيئات . وحبيبة الفيروس أو الفيرون Virion هى الوحدة المعدية وتتكون أساساً من مركز يكون من الحامض النووى محاط بغطاء بروتينى Protein يسمى كابسيد Capsid وهذا الغطاء يتكون من تحت وحدات بروتينية تسمى كبسوميرات Capsomers وفى بعض الفيروسات الأكثر تعقيداً نجد أن الكابسيد النووى Nucleocapsid (وهو المركز النووى مع الغطاء البروتينى) يحاط بغلاف envelop إضافى والبعض الآخر له زوائد أو نتوؤات سطحية Spikelike surface appendages .

وكما أشرنا من قبل أن جزيئات الفيروس تحتوى إما على DNA أو RNA ولكن لا يتواجد النوعان من الأحماض النووية فى جزئ الفيروس الواحد . وهذا يختلف عما هو معروف عن وجود مثل هذه المكونات فى الخلايا الحية الأخرى والتى تحتوى بدون استثناء على كلا النوعين من الأحماض النووية . ومن المعروف أن DNA هو المادة الحاملة للصفات الوراثية Genetic information فى كل الكائنات الحية . إلا أنه فى حالة الفيروسات تحمل الصفات الوراثية على DNA بينما فى حالة بعض الفيروسات الأخرى تحمل الصفات الوراثية على RNA حيث تكون خالية من الـDNA . وتختلف الفيروسات فى محتوياتها من DNA أو من RNA. وعادة يتواجد الـRNA فى الفيروسات النباتية فى حين أن الفيروسات الحيوانية قد تحتوى على الـDNA أو RNA ومن ذلك يمكن تقسيم

الفيروسات الحيوانية إلى مجموعتين حسب محتواها من الأحماض النووية أما فيروس البكتيريا فهو يحتوى دائماً على DNA .

زراعة الفيروس Cultivation of virus

تزرع الفيروسات حيث تتكاثر بداخل الخلايا الحساسة والمتخصصة لها والتى تسمى Indicator strains والذى يمكن توضيحه بالزراعة فى جنين الدجاج Chick embryo وفيها يلقح بيض الدجاج المخصب في عمر ٥ – ٧ أيام بنزع جزء من القشرة والتلقيح بالمادة المحتوية على الفيروس تحت ظروف معقمة ثم غلق الفتحة بشمع برافين معقم وهذه الطريقة تستخدم فى إنتاج أمصال ضد الجدرى والحمى الصفراء والإنفلوانزا وغيرها . كذلك يمكن الزراعة فى بلازما الدم المتجلط Plasma clot وفيها يترك الدم يتجلط ثم تلقح البلازما المحتوية على قطعة من النسيج الحى بالفيروس فى كيس من مادة معينة (كولديون) وهذه الطريقة تعتبر نواة والتى قد أدت إلى استعمال طريقة زراعة الأنسجة Tissue cultivation . أو بإستخدام مزرعة الأنسجة Tissu culture وفيها توضع أنسجة معينة تفضلها فيروسات معينة فى سيرم الدم أو فى محلول من الأملاح المغذية لضمان بقاء وإستمرار هذه الأنسجة حية لفترة ما ثم تلقح الأنسجة بالفيروسات . وتستخدم هذه الطريقة فى إنتاج الفاكسينات (الأمصال) وتمتاز هذه الفاكسينات المنتجة بهذه الطريقة عن المنتجة فى أجنة الدجاج بأنها أقل ضرراً على الأفراد الذين لديهم حساسية لألبيومين البيض .

وتتم هذه الطريقة أيضاً فى أنابيب إختبار حيث أن الخلايا النامية فى مزارع نسيجية يمكن أن تعمل على نمو مختلف الفيروسات الحيوانية . وفى هذه الطريقة تستعمل قطع الأنسجة خالية من التلوث وتزرع فى محلول معقم من الأملاح والجلوكوز المضاف إليها الدم أو خلاصات الأجنة Embryo juices ثم تلقح الأنسجة النامية بالفيروس المراد تنميته ثم تحضن المزرعة

لفترة من الزمن . ويعتبر جنين الدجاج من أحسن مصادر الخلايا لعمل مزارع الأنسجة ويمكن الحصول على الخلايا من أجنة الدجاج وزراعتها بسهولة . والفاكسين الخاص بالتحضين ضد مرض شلل الأطفال ينتج جزيئات للفيروس اللازمة لإنتاجه فى مزارع انسجة خلايا الكبد التى تنمى فى مزارع صناعية .

وتتكاثر الفيروسات داخل الخلايا إما بتكوين جزيئات فيروسية جديدة بطريقة تحليلية Lytic phage ويسمى فى هذه الحالة بالفيروس المحلل أى الشرس المميت . والطريقة الثانية أن تتكون جزيئات الفيروس الجديدة تحت تأثير ليزوجينى Lysogenic بمعنى أن DNA الفيروس يظل بالخلية فترة من الزمن يندمج فيها على صورة وحدات مبدئية Prophage مع النظام الوراثى للخلية البكتيرية ثم يتكاثر معه ليكون السلالة الليزوجينية أى خلايا لا تمثل طفرة مقاومة لجزيئات الفيروس . ولكى يتكاثر أى فيروس فى خلية عائله فلابد من توافر عدة شروط منها أن خلية العائل لابد وأن تكون سامحة لإستقبال الفيروس ، وألا تحطم الفيروس بإنزيماتها المتخصصة . كذلك أن يحتوى جينوم الفيروس على معلومات ايقاف أيض الخلية العائل وأن يكون جينوم الفيروس قادراً على إستغلال ميتابوليزم الخلية العائل . وعلى ذلك قد تكون الإصابة الفيروسية للبكتيريا إما لينية Lytic phage حيث يؤدى التكاثر العادى فى خلية العائل المتخصص إلى إذابتها Lysis process . ويختلف دورة الإصابة فى الفيروسات الليثية ولكنها تتشابه فى الأساس فعلى سبيل المثال نجد فيروس T6-phage فى بكتيريا E. coli ، إن الدورة تبدأ بالإلتصاق ثم حقن مادة الفيروس داخل الخلية ويحتوى DNA الفيروس على تعديل يمنع عمل الإنزيمات المحللة التى تفرزها خلية العائل فبدلاً من أن يحتوى على السيتوزين نجده يحتوى Glucosylates hydroxymethyl cytosine ، وهذا التغيير يوقف تأثير إنزيمات النيوكلييز .

ولكن فى نموذج إكثار الفيروس الليزوجينى Lysogenic phage أى الفاج المعتدل Temperate حيث تشمل دورة الإكثار ثلاث مراحل هى إستقرار جينوم الفيروس فى الكروموزوم البكتيرى وفى بعض الأحيان فى بلازميد البكتيريا ، ثم تناسخ DNA الفيروسى مع كروموزوم البكتيريا أو البلازميد . وبعد ذلك تحت ظروف معينة يتم إنفراد جينوم الفيروس وحث الدورة الليسوجينية .

ميكانيكية الإصابة بالفيروس Mechanism of viral infection

لا تختلف ميكانيكية الإصابة فى الخلايا الكبيرة سواء خلايا نباتية أو حيوانية كثيراً عن تلك الصورة الليتية أو الليسوجينية التى تحدث فى البكتيريا. وعموماً سواء فى فيروسات RNA أو DNA يتم دخول الفيروس إلى الخلية النباتية أو الحيوانية عن طريق الحشرات الثاقبة الماصة أو الجروح أو الهواء أو الماء . ومن المعروف أن خلايا النبات والحيوان تحتوى على فتحات كبيرة تسمح بنفاد الفيروس إلى داخلها . ويتم للفيروس السيطرة بعد تحلل الغلاف الفيروسى بفعل إنزيمات خلية العائل . ويمكن أن يتم ذلك فى السيتوبلازم وفى حالة فيروسات RNA فإنها تعمل مباشرة على mRNA وقد يتم إرتباطه بأحد الريبوسومات ثم يتكون جسيم RNA وهو الشكل المتضاعف Replica form. وفى حالة الفيروس مزدوج الخيط يحمل الشكل المتضاعف إمكانية إزدواج الخيط . وقد وجد أن كثيراً من الفيروسات يمكن إكثارها داخل الجنين المتكون فى بيض الدجاج وفى هذه الحالة يستخدم جزء بسيط من الأنسجة الداخلية مثل أنسجة الأغلفة المبطنة للسطح الداخلى لقشرة البيضة التى تحتوى على جنين ويوضع فى التجويف سائل يحتوى على مواد مغذية للنسيج ومضادات حيوية لمنع البكتيريا من النمو ومحلول منظم لضبط الرقم الهيدروجينى .

الكشف عن الإصابة الفيروسية Detection of viral infection

يمكن الكشف عن وجود الفيروس داخل العائل بواسطة بعض التغيرات الطبيعية بالعائل ، وقليلاً جداً ما يتعرف على الفيروس باستعمال الميكروسكوب الإلكتروني . وحيث أن نشاط الفيروسات يكون داخل الخلايا الحية فقط فإن التعرف عليها يكون بمعرفة ما تحدثه من مظاهر إصابة .

وقد يحدث نتيجة للتأثير المتبادل بين الفيروس والخلية تكوين بعض المحتويات الغريبة عن الخلية والتى يمكن رؤيتها بالميكروسكوب العادى وهذه تسمى بالمحتويات الداخلية وهى أجسام مختلفة فى أحجامها وأشكالها تظهر إما داخل السيتوبلازم أو داخل النواة في النسيج المصاب وهى مميزة لوجود بعض الفيروسات المتخصصة للعائل .

الكشف عن البكتيريوفاج Detection of bactreriophage

يوجد البكتيريوفاج أينما توجد الخلايا البكتيرية العائل المتخصص فى التطفل عليها . فيوجد فيروس بكتيريا الأمعاء فى البراز ومياه المجارى والذباب وزرق الدواجن وروث الحيوان . ويوجد أيضاً فى التربة وعلى أجزاء محاصيل الخضر المتعفنة . ويتميز فيروس البكتيريا بتخصصه إذ أن الفيروس الواحد يصيب نوع واحد فقط أو أنواعاً أو أشكالاً متقاربة . وتصاب البكتيريا ذات الخواص الواحدة بنفس الفيروس .

والمظهر الأساسى لفعل البكتيريوفاج على البكتيريا العائل هو التحلل Lysis كما سبق القول وهذه الصفة تعبر عن نفسها بأن يصبح النمو على بيئة الأجار على الأطباق شفاف ويسمى المكان المصاب بالبكتيريوفاج على بيئة الأجار المحتوية على البكتيريا العائل بظاهرة Plaque . فالإصابة تسبب هذه الظاهرة نتيجة تضاعف الفيروس داخل الخلية وتحليلها وخروج البكتيريوفاج لإصابة خلايا أخرى وأحياناً لا تتم هذه العملية نظراً لوجود خلايا مقاومة

للإصابة بالفيروس نظراً لعدم وجود مستقبلات خاصة بالفيروس على سطح الخلية البكتيرية . أو توقف نمو البكتيريا لقلة الغذاء وزيادة عوادم الأيض البكتيرى . أو بسبب ظهور حالة تعرف بالليسوجنية Lysogeny وفيها تكون البكتيريا حاملة للفيروس Carrier وغير قابلة للتحلل أى أنها صامدة للإصابة الفيروسية وتعرف ظاهرة الإصابة بفيروس البكتيريا بما يسمى باللـPlaques والتى تعبر عن المناطق الخالية من النمو البكتيرى على بيئة الأجار فى طبق بترى وتقف هذه المناطق عن الزيادة عندما تقف البكتيريا عن التكاثر ويكون شكل الـPlaques متخصصاً بالنسبة لكل فيروس . ويمكن عزل البكتيريوفاج بواسطة تمرير السائل المحتوى عليه فى مرشحات بكتيرية التى تمنع مرور خلايا البكتيريا ويمر البكتريوفاج فى السائل المترشح والذى يمكن إستقباله فى دورق معقم لحين إستعماله .

ويسبب البكتريوفاج كثيراً من المتاعب فى مصانع التخمرات والألبان وغيرها من الصناعات التى تعتمد على مزارع بكتيرية نقية للقيام بالتغيرات الكيماوية المطلوبة فإذا أصيبت هذه المزارع البكتيرية بالفاج فإنها تمرض ولا يمكنها القيام بالعمل وإنتاج المطلوب منها . وأصبح من الضرورى فى الصناعة فى الوقت الحاضر العمل على وقاية المزارع البكتيرية فى البادئات من التلوث بالفاج والبحث عن سلالات بكتيرية مقاومة للإصابة بالفاج .

الكشف عن فيروس الحيوان Detection of zoophagineae

يمكن التعرف على الإصابة بفيروس الحيوان على مستوى الحيوان أو النسيج أو الخلية المصابة . ومن المظاهر التى تدل على وجود الإصابة الفيروسية الحمى fever أو إرتفاع درجة الحرارة ، عدم التوازن Paralysis، الموت Death ، الإلتهابات Inflamations ، التدهور فى الرئتين أو الكبد أو بعض الأعضاء الأخرى أو وجود بقع Spots على الجلد أو الأغشية المخاطية

Intracellular inclusion أو وجود محتويات داخلية Mucous membranes في خلايا خاصة . وفى حالة العائل الحامل للإصابة Carrier فيمكن التعـرف عليها بنقلها إلى حيوان تجارب فتكون أجساماً مضادة (Antibodies (AB .

الكشف عن فيروس النبات Detection of phytophagineae

تختلف الأعراض التى تسببها الفيروسات للنباتات التى تصـاب بهـا إختلافاً بيناً . فهناك كثير من الأمراض يسببها فيروس واحد وذلك لإخـتلاف العوائل وإختلاف البيئة التى ينمو فيها العائل . ولـذلك لا يجـوز ربـط أى فيروس بمرض معين إذ أن أعراض الأمراض الفيروسية لا تدل كثيراً علـى الفيروس الذى يسبب تلك الأعراض فإن بعضها تكون متشابهة ولو أنها ناتجة عن الإصابة بفيروسات مختلفة .

وليس مجرد وجود الأعراض المعروفة للأمـراض الفيروسـية هـو الدليل على وجود مرض فيروسى ولكنها تساعد في التعـرف علـى وجـود المرض الفيروسى ويجب أن تجرى تجارب على إمكان إحداث تلك الأعراض بعدوى نباتات سليمة بعيداً عن وجود مسببات أخرى غيـر الفيـروس حيـث تتشابه بعض أعراض الإصابة الفيروسية مع أعراض نقص بعض العناصـر الغذائية .

وفى النباتات القابلة للإصابة فإن المظهر الشائع هو صغر حجمها وقلة محصولها ولكن هناك تغيرات واضحة فى مظهر بعض أجزائها مثل الأوراق، الأزهار ، الثمار وكذلك هناك تغيرات على المجموع الجذرى . ففـى الأوراق نجد التغير فى اللون مثل الموزيـك Mosaic ، الإصـفرار والكلـوروزيس Yellow & Chlorosis . كـذلك يظهـر علـى الأوراق التشـوهات Deformation . وأيضا يوجد موت للأنسجة مثـل الحلقـات Ring spots ، النقط الميتة Necrosis ، النقط الموضـعية Local lesions وكـذلك شـفافية

العروق Clearing of veins . أما مظاهر الإصابة على الأزهار فهى تكـــون في صورة إختزال الحجم وتشوه فى الشكل وأكثرها شيوعاً هو تغيـــر ألـــوان الزهرة Varigation .

أما بالنسبة للثمار فتكزن مظاهر الإصابة عبارة عن نضج مبكر وتغير في اللون والشكل والطعم والرائحة وكذلك فى قوام الثمـــرة وحجمهـــا . أمـــا تغيرات المجموع الجذرى فتظهر فى صورة بثرات دقيقة أو ظهور نقط ميتـــة Necrosis .

هذا وتكون الطريقة التى يعتمد عليها فياس كمية الفيروس هى قيـــاس التأثير كمعيار للكمية والتى تسمى بالإختبار الكمى . وتبدأ عملية الفصل عـــن بقايا الخلايا المصابة ثم إعادة العدوى فى خلايا سليمة للحصول على تركيزات أعلى مع تكرار هذه العملية . ثم تجرى عملية تنقية وبلورة للفيروس ثم تجرى عملية فحص ميكروسكوبى وتصويره لمعرفة شكله وحجمه .

إنتقال الفيروسات Transmission of viruses

إنتقال فيروس النبات Transmission of phytophagineae

تختلف طرق ووسائل إنتشار الفيروس إختلافاً كبيراً طبقـــا لصـــفات العائل فجدار الخلايا السيليولوزي فى النباتات المزهرة جعلها لا تصـــلح لأن تكون وسطاً ملائماً للفيروس . ولهذا فإن إصابة الفيروس لها دائماً ما تظهـــر على أنها إصابة عن طريق الجروح ويدخل الفيروس النبـــات ويـــتم إنتقالـــه بالطرق الآتية :

١- الإنتقال الميكانيكى

ينتقل فيروس موزيك الدخان TMV من النباتـــات المصـــابة إلـــى النباتات السليمة نتيجة لتلف ناتج عن أجـــراء بعـــض العلميـــات الزراعيـــة

كالعزيق والشتل ومرور العمال بين النباتات فى المزرعة عن طريق العصير المصاب الذى يعلق بهذه الأشياء إلى النباتات السليمة المجروحة .

٢- الإنتقال عن طريق التربة

تنتقل بعض الفيروسات إلى السويقة أثناء نموها عن طريق جــرح . وتدخل الجزيئات الفيروسية إلى داخل الجذر عــن طريــق تمــزق بعــض الشعيرات الجذرية عند نمو الجذور فى التربة الزراعية .

٣- الإنتقال عن طريق البذور

يتم إنتقال الفيروس عن طريق بذور النباتات المصابة فى الطبيعة . فى بذور النباتات البقولية مثل موزيك فول الصويا وموزيــك الفاصــوليا ، كذلك بذور الخس وبهذه الوسيلة ينتقل الفيروس من عروة إلى عروة ومــن عام إلى عام .

٤- الإنتقال عن طريق التكاثر الخضرى

ينتقل الفيروس عند التكاثر الخضرى للنباتات المصابة ، فكثير مــن فيروسات البطاطس تنتقل خلال الدرنات . وتخزن الفيروسات التى تصــيب نباتات العائلة الزنبقية فى الأبصال كفيروس موزيك البصل ، كمــا يعــيش الفيروس أيضاً فى الثمار الجذرية مثل فيروس موزيك وإصفرار البنجر .

٥- الإنتقال بواسطة النباتات المتطفلة

يمكن للفيروسات أن تنتقل من نبات مصاب إلى نبات سليم بالمرور خلال أنسجة النباتات المتطفلة التى تعمل بمثابة الموصل بينهما .

٦- الإنتقال بواسطة الحشرات

إنتشار فيروس النبات بالحشرات يتم بطريقتين إحــداهما ميكانيكيــة والأخرى بيولوجية ففى الطريقة الميكانيكية يتم نقل الفيروس مــن النبــات المصاب إلى النبات السليم بسرعة . ويلعب المن دوراً هاماً فى النقل بهــذه الطريقة مثل فيروس موزيك الكرفس عن طريق الحقن بالعصير وتسمى هذه

المجموعة بالفيروسات غير الباقية Nonpersistant viruses . أما في الطريقة البيولوجية يدخل الفيروس المسبب في علاقة بيولويجية مع الحشرة الناقلة وتسمى المدة التى تبدأ من تغذية الحشرة على النبات المصاب حتى تغذيتها على نبات سليم وظهور الإصابة بمدة الحضانة latent period . ويتوقف طول هذه المدة على الصفات البيولوجية للفيروس وللحشرة الناقلة . وتسمى مجموعة الفيروس هذه بالفيروسات الباقية Persistant viruses وتنتقل معظم هذه الفيروسات بواسطة نطاطات الأوراق Leaves hoppers .

٧- الإنتقال عن طريق النيماتودا

إكتشف حديثاً الدور الذى تلعبه النيماتودا فى نقل الفيروسات التى تعيش بصفة مستديمة بالتربة الزراعية . ومن الفيروسات الأرضية مجموعتين فقط هى التى ثبت حتى الآن إنتقال سلالاتها بواسطة النيماتودا هما مجموعة فيروسات التبقع الحلقى Ring spot virus (RSV) مثل فيروسات الورق المروحى فى الكروم وتنقله للنيماتودا الخنجرية ، ومحموعة فيروسات الفرقعة Rattle viruses (RV) وتنتقل سلالات هذه المجموعة بالنيماتودا القاصفة *Trichodorus pachydermis* وقد أمكن التعرف على سلالتين منها أحدها من نبات *Atropa belladona* . ويوجد أيضاً فى جذور نبات الدخان والسلالة الثانية تعرف بسلالة موزيك سيقان البطاطس Potato shoot mosaic .

طرق إنتقال فيروس الحيوان Transmission of zoophaginaea

توجد فيروسات الحيوان فى أجسام العوائل المصابة فى الجلد وإفرازات الأنف والأنسجة خاصة البول والبراز . وتوجد فيروسات كثيرة فى دم المصاب وبذلك يمكن أن تنتشر الفيروسات إلى عوائل جديدة بالإتصال المباشر Direct contact وبواسطة التنفس Inhalation وبعوائل وسيطة

بالغذاء أو بالشرب أو بالناقلات مثل البعوض والعناكب أو القمل أو البراغيث أو القراد . وهناك فيروسات مثل فيروس حمـــى الـــوادى المتصـــدع Rift valley virus الذى يسبب مرض Rift valley fever الذى يصيب الماشـــية والإنسان وينتقل عن طريق البعوض الناقل للمرض بين الإنسان والحيـــوان وكذلك تداول اللحوم المصابة أثناء الذبح علاوة على تناول اللبن غير المغلى جيداً بالإضافة إلى إستنشاق الرذاذ المتطاير من الحيوانات المصابة . ويتأثر هذا الفيروس بالحرارة والمنظفات والأحماض .

الفصل الثالث :

الخمائر

الخمائر

The yeasts

تنتشر الخمائر فى الطبيعة إذ توجد على الفاكهة وفى مزارع العنب والموالح ، كما يمكن عزلها من التربة الزراعية والهواء . كذلك توجد الخمائر على الأجزاء النباتية المتمزقة وفى رحيق الأزهار والمحاليل السكرية القابلة للتخمر .

الصفات العامة

وتعتبر الخمائر مجموعة كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة متجانسة فى شكلها الخارجى وهى أكبر حجماً من الخلايا البكتيرية إذ يتفاوت حجمها من ٤ – ٢٠ مرة قدر حجم الخلية البكتيرية . ونظراً لأن الخميرة هى فطر وحيد الخلية فإن معظم الخمائر يتبع صف الفطريات الأسكية Ascomycetes وقليل منها يتبع صف الفطريات الباذيدية Basidiomycetes أو الفطريات الناقصة Fungi imperfecti .

وبالرغم من إختلاف الخمائر فى الشكل والحجم إلا أنها كائنات دقيقة وحيدة الخلية unicellular microorganisms بعضها إسطوانى الشكل cylindrical أو مستطيلة elongated أو كروية coccoid . وللخميرة جدار خلوى من الكيتين وهو عبارة عن Acetylated glucose amine ويحتوى أيضاً على مواد سليلوزية ولكنها تختلف عن السليلوز العادى والجدار الخلوى يحيط بمحتويات الخلية وهذا الجدار عادة ما يكون رقيقاً مرناً فى الخلايا صغيرة السن ويزداد سمكاً وصلابة كلما تقدمت الخلية فى العمر . ويوجد بين بروتوبلازم الخلية وجدارها الخلوى الغشاء السيتوبلازمى cytoplasmic membrane وهو رقيق جداً لا يمكن مشاهدته إلا بطرق فحص خاصة وهو المسئول عن النفاذية الإختيارية وليس للخميرة أعضاء حركة ولا غلاف أو

طبقات مخاطية . وسيتوبلازم الخميرة عبرة عن سائل رائق غنى بالحامض النووى ويوجد به الميتوكوندريا وتكون عادة ملاصقة السنتروسوم أو الغشاء النووى وكذلك يحتوى على فجوات ونواة ومواد مختزنة مثل الجليكوجين وحبيبات الدهون والفوليوتين وغيرها من المركبات الهامة للخلية .

ومن الناحية الفسيولوجية فإن الخمائر تفتقر إلى الكلوروفيل في تركيبها وتعتمد فى الحصول على الطاقة على مصدر نباتى أو حيوانى ولذلك فإنها تقسم إلى خمائر مترممة Saprophytic yeast وأخرى متطفلة Parasitic yeast .

كذلك يوجد السنتروزوم centrosome فى السيتوبلازم وهو جزء يصبغ بشدة بالصبغات الحامضية ومن المحتمل أنه يتكون أساساً من بروتين قاعدى ويكون ملاصقاً للغشاء النووى ويلعب دوراً أساسياً فى توجيه عملية التبرعم والتزاوج والإنقسام الإختزالى لخلية الخميرة . ويوجد السنتروكروماتين centrochromatin حامضى التأثير ويتصل بالسطح الخارجى للسنتروسوم وجزء منه يلاصق النواة وهو يغطى أغلب السنتروزوم فى الخلايا الساكنة بينما يظهر كعمود طويل أثناء الإنقسام .

يحتوى السيتوبلازم أيضاً على النواة ومحتوياتها وتتميز نواة خلية الخميرة بأنها كبيرة وواضحة ولها نوية واضحة أيضاً وتحتوى على الكروموزومات وهذه الكروموزومات تنشط عند التبرعم وتتجه أنصاف الكروموزومات إلى البرعم بدون تكوين المغزل التى تشاهد عند إنقسام خلايا النباتات الأرقى كما أن أنصاف الكروموزومات تتجه إلى البرعم بدون إختفاء الجدار النووى للخلية الأم . ويجب أن نشير إلى الفجوة العصارية الموجودة بالخلية والتى يعتبرها Lindegren جزءاً من النواة وليست فجوة عصارية بينما بعض العلماء الآخرين يعتبرونها فجوة عصارية وأن النواة الجزء

الأمامى فقط . وكلمة الخميرة ليست كلمة علمية لها قيمة من الناحية التقسيمية حيث يلاحظ أن الخميرة مجموعة من الفطريات تتبع أقسام مختلفة وعـائلات مختلفة وأجناس وأنواع عديدة . ويلاحظ أن تقسيم الخميرة مبنى على أسـاس وجود التكاثر الجنسى أو عدم وجوده ونوعه ، نوع وشكل الجراثيم اللاجنسية، تكوين الميسليوم وذلك علاوة على عديد من الصفات الفسيولوجية والمزرعيـة وتنقسم الخميرة إلى خميرة مكونة للجراثيم الأسكية وخمائر غير متجرثمة .

تكاثر الخمائر Reproduction of yeasts

١- التكاثر اللاجنسى Asexual reproduction

تتكاثر الخمائر لا جنسياً Asexual reproduction وذلك بـالتبرعم Budding ، إلا أن كل الخمائر الحقيقية True yeast تتميز بقـدرتها علـى تكوين جراثيم أسكية Ascospores بمعنى أنهـا تتكـاثر جنسـيا Sexual reproduction ، وتحفظ الجراثيم الأسكية فى حافظة أو زق Sac or ascus، وعلى ذلك يطلق أحيانا على كل الخمـائر الحقيقيـة Sac fungi . وينبغـى وضعها من الناحية التقسيمية فى صف Ascomycetes ، وعلى ذلك يقسـم للتكاثر الخضرى أو اللاجنسى إلى :

أ- التبرعم Budding

وهى الطريقة الأكثر شيوعاً لتكاثر الخميرة خضـريا . وفـى هـذه الطريقة يبرز جزء من البروتوبلازم من جدار الخلية Bud ويسـتطيل ثـم يكون السنتروسوم جزء مخروطى يمتد إلى هذا البروز حتى ينفصـل عـن الخلية الأم Mother cell مكوناً خلية ناشئا بها نواة ناتجة من إنقسام النـواة الأم إنقساماً عادياً . ثم تهاجر إحدى النواتان ومعها بعض البروتوبلازم إلـى البرعم حيث ينفصل عندما يصل إلى طور البلوغ . كما قد تتبـرعم الخليـة النشطة فى أماكن مختلفة حيث تبدو الخلايا لفترة بسيطة قبـل أن تنفصـل البراعم عن الخلية الأم ذات تركيب ميسليومى بسيط .

ب- الإنقسام الثنائي البسيط Binary fission

يحدث هذا النوع من الإنقسام فى أفراد قليلة من الخمائر ، وتشبه عملية الإنقسام فى أوجه كثيرة ما يحدث فى البكتيريا . وفيها تستطيل خلية الخميرة ثم تنقسم النواة إلى نواتين يذهب كل منهما إلى طرف الخلية ثم يتكون جدار عرضى يقسم الخلية إلى خليتين لكل منهما نواة وسيتوبلازم ثم تستدير كل منهما وتحاط بجدار خلوى ، ثم تنفصل الخليتين عن بعضهما .

وفى بعض الأنواع يحدث هذا التكاثر بسرعة دون أن تنفصل الخلايا عن بعضها وبذلك تتكون سلسلة طويلة من الخلايا تشبه ميسليوم الفطر ولذلك يسمى بالميسليوم الكاذب Pseudomycelium . ويطلق على هذا النوع من الإنقسام بالـ Transverse fission .

ج- التجرثم Sporulation

يحدث إنتاج الجراثيم فى المزارع القديمة لبعض الخمائر . وفيه تمتلئ خلية الخميرة بالمواد الحبيبية ويغلظ جدارها ثم تدخل فى طور من السكون الظاهرى مكونة ما يسمى بالجراثيم الكلاميدية . هذه الجراثيم تكون أكثر مقاومة للجفاف من الخلايا الخضرية ، تنبت تحت الظروف البيئية المناسبة مكونة خلايا خضرية جديدة . وتعتبر هذه العملية وسيلة لحفظ النوع فقط أى أنها تعتبر وسيلة حفظ بدون تكاثر حيث تنتج كل جرثومة Asexual spore خلية خضرية واحدة One vegetative cell . هذا ويلاحظ أن بعض أنواع الخمائر التى تكون ميسليوم كاذب تكون جراثيم كلاميدية فى سلاسل إما فى نهاية الهيفا أو فى وسط سلسلة الخلايا . وبعض الأنواع تكون جراثيم لا جنسية Asexual spores تسمى Blastospores وهى عبارة عن وحدات كروية أو بيضاوية تتكون على الهيفا التى تكون سلسلة من البراعم . كذلك يوجد أنواع من الخمائر تكون جراثيم تسمى Arthrospores حيث تنتج عن تكسير الميسليوم إلى جراثيم إسطوانية الشكل .

٢- التكاثر الجنسي Sexual reproduction

ويتم التكاثر الجنسي في الخمائر الحقيقية بأن تقترب خليتين من بعضهما ثم تكون كل خلية نتوء صغير ، لا يلبث هذين النتوئين أن يتحدا ثم تندمج النواتان ليتكون الزيجوت zygote . يلي ذلك إنقسام في نواة الزيجوت المندمجة fused nuclei وتتكون الجراثيم الأسكية كما في *Schizosaccharomyce odosporus* وهذه الجراثيم تختلف من حيث الشكل واللون ودرجة نعومة الجدار الجرثومي . أما الخمائر الكاذبة False yeasts والتي لا تكون جراثيم جنسية تعتبر ضمن مجموعة الفطريات الناقصة fungi imperfecti . والتكاثر الجنسي في الخمائر يتم بتكوين الجراثيم الزقية وتنقسم الخمائر المكونة للجراثيم الزقية إلى نوعين كالآتي :

أ- خلايا أحادية الكروموسومات Haploid

وفي هذا النوع تكون خلية الخميرة الخضرية من النوع الأحادي الكروموزومات (1N) ويتم التزاوج بين خليتين من هذا النوع ليكونا الكيس الأسكي وتندمج بين نواة ثنائية الكروموزومات (2N) التي تنقسم نواتها عدة إنقسامات لتكون عدة أنوية ثنائية الكروموزومات يحيط كل منها بجزء من السيتوبلازم وجدار لتكون جراثيم أسكية ثنائية الكروموزومات ثم ينفجر الكيس الأسكي وتخرج الجراثيم وعند إنباتها في الظروف الملائمة تنقسم نواة الجرثومة الثنائية . مثل هذا النوع من التكاثر الجنسي يحدث في خمائر *Schizosaccharomyces* و *Zygosaccharomyces* .

ب- خلايا ثنائية الكروموسومات Diploid

في هذا النوع تكون الخلايا الخضرية أصلاً ثنائية الكروموزومات وعند حدوث التجرثم فإن الخلية تفقد قدرتها على التبرعم وتستدير لتكون الكيس الأسكي وتنقسم النواة عدة إنقسامات أولها إختزالي وبذلك تتكون عدة

خلايا أحادية الكروموزومات Haploid يحيط كل منها بجزء من السيتوبلازم وجدار وعند إنفجار الكيس الأسكي تخرج الجراثيم الأسكية التي تنبت عند تحسن الظروف . تنبت الجراثيم التى تكون الخلايا الخضرية ثانية بتزاوج جرثومتين من النوع الأحادى الكروموزومات لتكون خلية خضرية ثنائية الكروموزومات . يحدث مثل هذا النوع فى خمائر *Saccharomyces* ، وعلى ذلك يعتبر تكوين الجراثيم الجنسية في الخمائر وسيلة من وسائل التكاثر بعكس تكوين الجراثيم اللاجنسية الذى يعتبر وسيلة لبقاء النوع فقط .

نمو الخمائر Yeast growth

تكون الخمائر ذات القيمة الإقتصادية على المنابت الصلبة Solid media مستعمرات تشبه إلى حد كبير مستعمرات البكتيريا . أما فى حالة البيئات السائلة فتكون صوراً مختلفة للنمو ما يلى :

أ- خمائر غشائية Film forming yeast

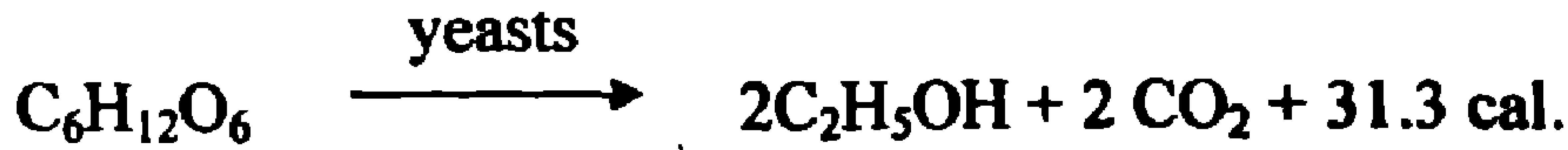
وهذه الخمائر تنمو على سطح البيئة الغذائية السائلة مكونة غشاء يبقى عادة حتى ينكسر ويسقط بتأثير ثقله إلى القاع وتقوم هذه الخمائر بأكسدة الأحماض العضوية والكحولات والسكريات .

ب- خمائر قمية Top yeast

وهى التى تتجمع خلاياها فى نظام كتل clumps لا تلبث أن تطفو فوق سطح البيئة الغذائية السائلة بواسطة الغاز المتكون نتيجة نشاطها والمحصور بين كتل الخلايا . ومن الخمائر التابعة لهدا النوع هى الخمائر المستخدمة فى إنتاج البيرة المسماه Ale beer وكذلك خميرة الخباز أى أنها خمائر قادرة على التخمر الكحولى .

ج- خمائر قاعية Bottom yeast

وهى التى تبقى خلاياها منفصلة تماماً عن بعضها فلا تتجمع ثم ترسب وتستقر فى قاع البيئة الغذائية السائلة المتخمرة . وتقوم الخمائر القمية والخمائر القاعية بتخمير المواد السكرية منتجة ثانى أكسيد الكربون والكحول . ومن هذه الخمائر ما يستخدم فى صناعى البيرة المسماه lager beer



$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{yeasts}} 2C_2H_5OH + 2\,CO_2 + 31.3\text{ cal.}$$



$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{yeasts}} 6\,CO_2 + 6H_2O + 689.8\text{ cal.}$$

ولكى تنمو الخمائر نمواً مناسباً يجب توفر بعض الشروط البيئية والغذائية كما يلى :

١- الرطوبة

معظم الخمائر تكون عالقة بالأغذية ولذلك تنمو جيداً فى وجود نسبة عالية من الرطوبة . ولو أن بعضها تنمو فى وجود تركيزات مرتفعة من المواد المذابة مثل السكر والملح حيث أنها تتحمل تركيزات أعلى مما تتحمله البكتيريا . حيث تكون أقل نسبة رطوبة تلزم نشاط الخميرة العادية تتراوح بين ٠,٨٨ – ٠,٩٤ ، بينما بالنسبة للخميرة الإسموفيلية osmopilic yeast تتراوح هذه النسبة بين ٠,٦٢ – ٠,٦٥

٢- الحرارة

تعتبر درجة الحرارة المثلى الملائمة لنمو الخميرة هى بين ٢٥ – ٣٠ °م ، ولكن لبعض الأنواع القدرة على النمو على درجة حرارة الصفر المئوى أو ما يقترب منه .

٣- درجة الـpH

معظم الخمائر يناسبها درجة الـpH من ٤ – ٤,٥ تقريباً لكى تنمو النمو الأمثل .

٤- التهوية

تنمو الخمائر جيداً تحت الظروف الهوائية واللاهوائية ، ولكن هناك أنواع يمكنها النمو بدرجة أقل تحت الظروف اللاهوائية محدثة التخمر .

٥- مصدر الطاقة

تعتبر السكريات أفضل مصدر للطاقة ولو أن الخمائر المؤكسدة قد تستهلك الأحماض العضوية والكحول . وثانى أكسيد الكربون الناتج من الخميرة يعتبر الناتج الأساسى فى صناعة الخمور والبيرة ، وتحتاج الخميرة للنيتروجين إما على هيئة مواد بسيطة أو مركبات عضوية معقدة بجانب بعض العوامل المساعدة والأملاح المعدنية والفيتامينات.

الخمائر الإقتصادية

من أهم الخمائر الإقتصادية فى حياة الإنسان ما يستعمل فى إنتاج المشروبات الكحولية وفى إنتاج الخل والخبز ونوع من الجبن وكذلك إنتاج الإنزيمات والفيتامينات . بالإضافة إلى ذلك أن الخمائر تستهلك نفسها كمادة غذائية ومقوية . فى نفس الوقت قد تسبب فساد المخللات مثل الكرنب وفساد عصائر الفاكهة والشراب والمولاس والعسل والجيلى واللحوم والأنبذة Wines والبيرة وكثير من المواد الغذائية الأخرى ومن أجناس الخمائر الإقتصادية الأتية :

أولاً : الخمائر الحقيقية True yeast

جنس *Schizosaccharomyces*

يقوم هذا الجنس بتكوين من أربعة إلى ثمانية جراثيم داخل الكيس الأسكى ، وهى توجد على الفاكهة والمولاس والتربة الزراعية والعسل .

جنس *Saccharomyces*

الخلايا إما مستديرة أو بيضاوية ، وبعضها قد تكون ميسليوم كاذب pseudomycelium . التكاثر إما بالتبرعم الطرفي أو بواسطة تكوين جراثيم أسكية والأخيرة تكون كل أربعة منها داخل كيس أسكى . وأهم نوع هو Saccharomyces cerevisiae والذى يستعمل فى كثير من الصناعات الغذائية مثل صناعة الخبز لرفع العجين عن طريق ثانى أكسيد الكربون الناتج خلال عملية التخمير . والخمائر السطحية تستعمل فى صناعة البيرة المعروفة بالايل Ale وفى الأنبذة وفى إنتاج الكحول الصناعى والجليسرول وإنزيم الإنفرتيز invertase . تتوسع خلايا الخمائر السطحية top yeast خلال نموها وينحصر بين هذه الخلايا غاز ثانى أكسيد الكربون فتطفو هذه الخلايا على سطح السائل المتخمر ، أما الخمائر القاعية bottom yeasts فلا تتجمع ، ولكن بعض فترة من النمو والنشاط تغطس إلى القاع مثل S. carlsbergensis و S. cervisiae var. ellipsoids ، من السلالات المكونة للكحول بنسبة عالية ولذلك تستعمل أساساً فى إنتاج الكحول الصناعي والأنبذة والمشروبات المقطرة ، S. carlsbergensis وهى خميرة قاعية تستعمل فى صناعة البيرة المعروفة باسم Lager والنوعين S. laclis و S. fragilis لهما القدرة على تخمير اللاكتوز فتعتبر مهمة بالنسبة للصناعات اللبنية ومنتجات الألبان Dairy products .

جنس *Zygosaccharomyces*

ولهذا الجنس القدرة على النمو فى تركيزات عالية من السكر حيث يعتبر من Osmophilic yeast ، وبالتالى تسبب فساد العسل والشراب المركز والمولاس وفى تخمرات صلصة فول الصويا وبعض الأنبذة wines وتنمو *Z. nussbaumeri* فى العسل وتسبب فساده .

جنس *Pichia*

وهذه الخمائر إما أن تكون بيضاوية أو إسطوانية ولها القدرة على تكوين ميسليوم كاذب . والجراثيم الأسكية إما مستديرة أو على هيئة قبعة وعددها من ١ - ٤ فى الكيس الأسكي الواحد . وبعضها يكون أغشية على المشروبات الكحولية مثل *P. membrane faciens* ولذلك تسبب فساد البيرة والأنبذة .

جنس *Hansenula*

جراثيمها على هيئة قبعة متشابهة فى مظهرها تنمو على التركيزات العالية من الكحول وتسبب أكسدته .

جنس *Debarymyces*

وهذه تكون الأغشية على السوائل الملحية المستعملة فى تمليح اللحوم وتنمو على المخللات وتسبب فسادها .

ثانيا : الخمائر الكاذبة False yeast

تشمل الخمائر الكاذبة وغير الحقيقية الأنواع الآتية :

١- خميرة الغذاء Food yeast مثل *Cryptococcus utilis*

٢- خميرة اللاكتوز *Cryptococcus kefir*

٣- وهذه الخمائر لها المقدرة على تكوين غشاء *Candida myderma* على سطح المواد الغذائية . كذلك فإنها تنمو فى الوسط الحامضى مثل البيرة والمخللات والكرنب المخلل خصيصا saurkraut وعندما تستخدم الحمض

فإنها توفر وسط أكثر ملائمة لنمو أنواع أخرى من الميكروبات التى تعمل على فساد الغذاء .

٤- وهذه تستخدم فى تحضير بادئات الجبن *Candida krusei* السويسرى مع بكتيريا *Lactobacillus bulgaricus* حيث تعمل الخميرة على تهيئة الظروف البيئية المحيطة بالبكتيريا حتى يصبح الوسط Microaerophiles وبذلك تستطيع *L. bulgaricus* من إنتاج متماثل لحمض اللاكتيك Homofermentative .

٥- *Rhodotorula glutinus* وهذه الخميرة تستطيع إنتاج صبغة قرمزية اللون وهى غير مرغوبة عند تحضير sauerkraut ولذلك إذا نمت هذه الخميرة فيسمى بالكرنب القرمزى Pink kraut حيث تفرز الصبغة خارج وتسبب تلون ماء المخلل .

أنواع الخميرة Yeast

والخمائر هى فطريات تتبع عائلات مختلفة وهى تتكاثر بالتبرعم أو بالإنقسام الثنائى البسيط أو بالتجرثم فى الأنواع التابعة للـ Ascomycetes وأهمها ما يتبع جنس *Saccharomyces* ويشمل أنواع عديدة منها *S. cerevisiae* التى تستعمل صناعياً فى تخمير الخبز وفى إنتاج الكحول والجليسرول . وتوجد أنواع أخرى من الخميرة الكاذبة تسمى False yeast التى منها الجنس *Torulopsis* وهى تحدث تخمرات غير مرغوبة فيها ولكنها تستعمل صناعياً فى بعض الأغراض الطبية كما أن بعضها يستعمل كغذاء آدمى وبعضها يضاف لعليقة الحيوان .

تعمل الخميرة على رفع الخبز فتجعل العجين يرتفع وتعطى له قواماً خفيفاً . والخميرة نبات حى يتغذى على السكر الموجود فى العجين وينتج غاز ثانى أكسيد الكربون الذى يجعل العجائن تعلو ويزيد حجمها كما أنها

تعطى الخبز النكهة اللذيذة والشذى المميز . وخلال تسوية العجين فى درجة الحرارة المرتفعة يتبخر الكحول الموجود بالعجين ، كذلك تعمل الحرارة على تمدد فقاعات غاز ثانى أكسيد الكربون مما يؤدى إلى إرتفاع الخبز مع زيادة حجم رغيف الخبز مما يجعله هشاً ومقبول الشكل مستساغ الطعم .

وتوجد عدة أنواع من الخميرة تنتجها الشركات المختلفة وتشمل الأنواع التالية :

١- الخميرة النشطة الطازجة Fresh active yeast

وهى تحضر وتباع على الصورة المضغوطة Compressed yeast فى عبوات موجودة بالأقسام المبردة فى الأسواق و السوبر ماركت والخميرة المضغوطة تكون تقريباً عديمة الرائحة أو ذات رائحة بها لمسة من رائحة الفاكهة ، متماسكة ذات قوام بلاستيك لونها كريمى وتذوب بسهولة فى الماء دون تكون تكتلات . والرائحة الحامضية غير المرغوبة والقوام اللزج sticky texture والسطح البنى يعتبر علامات تدل على أن الخميرة تموت أو ماتت فعلاً ولإختبار ما إذا كانت الخميرة المضغوطة ما زالت حية تفرك فإذا فركت بسهولة فإنها تكون حية . هذا ويجب أن تحفظ الخميرة بالثلاجة ودرجات الحرارة المثلى لتخزين الخميرة هى من ٤ – ٦ °م ويجب أن تحفظ فى العبوة الأصلية أو تلف فى ورق الألمونيوم أو أغشية بلاستيكية ملونة coloured film أو ورق معامل بالشمع waxed paper لحمايتها من الضوء، وتحت هذه الظروف فإنها تحفظ لعدة أسابيع ، ولكن من الأفضل شراء كميات أصغر حتى يكون التخزين الطويل غير ضار . ويمكن حفظ الخميرة المضغوطة بالتجميد freezing لعدة أشهر . ويفضل تجميد الخميرة فى كميات صغيرة تكفى لعمل خبزة واحدة ويجب أن تفكك defrost لمدة ١٢

ساعة فى الثلاجة قبل الإستخدام . وتموت الخميرة فى درجات حرارة أعلى من ٥٠ °م وتركيز الملح العالى أيضا يحطم الخميرة .

١- الخميرة الجافة Dried yeast

تحفظ الخميرة الجافة لعدة أشهر إذا خزنت فى عبوة محكمة القفل خالية من الرطوبة فى مكان بارد جاف . ومن المهم أن تكون درجة حرارة الماء مناسبة فإذا كانت عالية جداً أو منخفضة جداً فإن الخميرة تكون معرضة لفقد معظم قوتها فى التخمير . والخميرة الجافة قد تكون خميرة جافة نشطة عادية Active dry yeast أو خميرة سريعة المفعول Rapid rise yeast .

أ- الخميرة الجافة النشطة العادية Active dry yeast

وهذه تذاب فى السائل (الطريقة العادية) أو تخلط مع جزء من المكونات الجافة (الخلطة السريعة Rapid mix) وهى متواجدة فى عبوات من البلاستيك المحكم الغير منفذ للهواء أو الرطوبة .

كل من الخميرة الجافة النشطة العادية أو الخميرة المضغوطة يمكن إستبدال بعضهم البعض وكل ٢,٥ ملعقة شاى من الخميرة الجافة يمكن استبدالها بقطعة من خميرة مضغوطة زنة ١٧ جم .

ب- الخميرة الجافة سريعة المفعول Rapid rise yeast

هى سلالة من الخميرة الجافة عالية وسريعة النشاط حيث تقوم بعملية تخمير معبأة فى نصف الوقت اللازم مقارنة بسلالات أخرى . وهذه الخميرة تكون معبأة فى عبوات بلاستيكية مثلها فى ذلك مثل الجافة النشطة المعروفة للجميع .

إنتاج الخميرة Yeast production

١- خميرة المولاس Molasses yeast

يستخدم مولاس سكر القصب sugar cane molasses أو مولاس سكر البنجر sugar beet molasses لتنمية الخميرة كمخلفات رخيصة الثمن تحتوى

على سكريات تتراوح بين ٥٣ – ٥٧ % سكريات . حيث يستخدم فى تخفيفات مناسبة لتنمية الخميرة . بعد ذلك تؤخذ الخميرة بغرض التجفيف للإستخدام الآدمى أو لإنتاج خمائر علف . وهذه الخميرة تحتوى على بروتين بنسبة لا تقل عن ٣٥ % ولا تزيد نسبة الرطوبة عن ١٠ % ونسبة الرماد لا تزيد عن ٨ %

٢ – خميرة البيرة الجافة Dried brewer`s yeast

هى عبارة عن الجزء المتبقى بعد ترشيح السائل أثناء صناعة البيرة بعد تجفيفه بحيث لا يحتوى على خلايا حية . وهذه الخلايا لا تقل نسبة البرويتن الخام عن ٤٠ % ، ولا تزيد نسبة الرطوبة عن ٨ % وهى تنتمى لجنس *Saccharomyces* .

أهمية الخميرة Importance of yeast

للخميرة أهمية كبيرة من النواحى الغذائية والطبية والصناعية . فالخميرة تستخدم بكثرة وبصفة أساسية فى عملية تخمير العجين حيث يؤدى الغاز المتكون من عملية تخمير السكريات فى العجين إلى حدوث الإنتفاخ المرغوب فيه . وأن عملية التخمر تحدث تغيراً فى بروتين العجين لتعطيه المطاطية وتعطى للخبز الناتج قواماً مرغوباً فيه ، علاوة على الطعم المستساغ الخاص بالخبز .

كما تستخدم الخميرة فى إنتاج الكحول من المواد السكرية وإنتاج النبيذ والمشروبات الكحولية المختلفة . كما تستخدم الخميرة كمصدر الفيتامينات وهناك خمائر تستخدم الآن بكثرة كمصدر للبروتين كإضافات فى علائق الحيوان . علاوة على أنها ترش فى صورة محاليل على نباتات الخضر وتوضع أيضاً فى منطقة جذور نباتات الفاكهة .

الفصل الرابع :

الفطريات

الفطريات
The Fungi

تقع الفطريات ضمن الكائنات الحية الدقيقة ذات الخلية حقيقية النـــواة Eukaryotic cell وثالوثها الفطرى Thallus لا يحتوى علـــى جـــذور ولا سيقان ولا أوراق ، وهذه الكائنات تتباين فى حجمها وطبيعة معيشتها وطرق تكاثرها وهى تشبه الطحالب من ناحية تركيبها الجسدى ، فهى إما أن تكون وحيدة الخلية unicellular أو خيطية Filamentous وقد تتشابك خيوطهـــا لتكوين تراكيب خلوية ، ولكنها تختلف عن الطحالب إختلافاً جوهريـــاً مـــن حيث خلو غزلهـــا الفطـــرى fungal mycelium مـــن مـــادة الكلوروفيـــل والبلاستيدات الخضراء ، ولذلك فهى من الكائنـــات غيـــر ذاتيـــة التغذيـــة Heterotrophes أى أنها لا تستطيع أن تعيش كالطحالب معتمدة على نفسها لإستيفاء إحتياجاتها الغذائية . من هذه الفطريات ما تستوفى تلك الإحتياجات من مصادر حية وتعرف بالفطريـــات المتطفلـــة Parasitic fungi أو مـــن مصادر عضوية ميتة وتعرف بالفطريـــات المترممـــة Saprophitic fungi وهى تحصل على غذائها بطريقة الإمتصاص وتستخدم المواد الكربوهيدراتية لتأمين إحتياجاتها من الطاقة ، كما تستخدم بعض الأنواع الفطريـــة الأخـــرى الدهون والبروتينات والكحولات والأحماض الدهنية لهذا الغرض .

وتتكون الفطريات إما من أجسام وحيدة الخلية مثل الخميـــرة Yeast أو من خيوط دقيقة مجهرية الحجم تعرف بالخيوط الفطرية Hypha قد تكون مقسمة إلى خلايا ، أو غير مقسمة ، وهذه الخيوط أو الهيفات تنمو وتتفـــرع وتتشابك معاً لتكون الميسليوم Mycellium الذى يطلق عليه الغزل الفطـــرى وهو الذى يكون جسم الفطر ، ويتراوح طول الغزل الفطرى ما بين عدد قليل

من الميكرونات إلى عدة أمتار فى الطول . أما الهيفا فهى تتراوح ما بين ٥ – ١٠٠ ميكرون (الميكرون هو وحدة قياس = ١/١٠٠٠ من الميلليميتر).

وعادة ما تكون الهيفات الفطرية عديمة اللون ، ولكنها فى بعض الفطريات تتخذ عدة ألوان مختلفة وهذا راجع إلى طبيعة المواد الغذائية المختزنة ، أو إلى وجود بعض الأصباغ المختلفة . ولقد بينت الدراسات السيتولوجية أن كل هيفا فطرية تتكون من جدار خارجى رقيق وتجويف داخلى ممتلئ بالبروتوبلازم ، وفى بعض الفطريات الحقيقية يكون بروتوبلازم الهيفا الفطرية مستمراً ، وفى البعض الآخر تنقسم الهيفا إلى عدد من الخلايا الفطرية تفصلها حواجز عرضية تسمى Septa (المفرد Septum) هذه الخلايا أما أن تكون وحيدة النواة أو ثنائية أو عديدة الأنوية . والحواجز الموجودة بين الخلايا لها فتحة صغيرة مركزية تسمح بإتصال البروتوبلازم بين خلية وأخرى . وفى الفطريات الحقيقية التى لا يوجد فى هيفاتها حواجز عرضية يطلق عليها هيفات غير مقسمة أو مدمج خلوى (Nonseptate) Coenocytic فى داخلها قليل من الأنوية كما هو الحال فى الفطريات الطحلبية .

و تمثل الفطريات مجموعة كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة واسعة الإنتشار حيث تضم وفقاً لإحدى الإحصائيات الحديثة أكثر من ١٠٠ ألف نوع ، ويزداد هذا الرقم بإستمرار . وتوجد فى كل مكان تتوافر فيه الرطوبة والمواد العضوية ، وهى تنمو بغزارة فى الظلام والضوء الضعيف ، وخاصة فى البيئات الرطبة ، وتوجد فى المناطق الحارة والمعتدلة والباردة ، وكذلك فهى منتشرة فى التربة الزراعية وفى الهواء ، وتعيش قلة منها فى مياه البحار والأنهار والبرك ، ويمكن القول أنه لا تكاد توجد حواجز جغرافية تقف أمام توزيعها .

التركيب :

ويشكل الماء نسبة كبيرة من الخلية الفطرية إذ تبلغ نسبته حوالى ٩٨% من وزن الفطريات الهلامية اللزجة وقد تنقص هذه الكمية إلى ٨٠ : ٩٠ % في الفطريات التى لها أجسام ثمرية متحجرة ، وتتفاوت نسبة وجود العناصر المختلفة الأخرى فى الخلية الفطرية ، إذ أنه عند تحليل الرماد المتخلف بعد الثالوس الفطرى تبين وجود عناصر الكربون والنيتروجين والإيدروجين والأكسجين والكبريت والفوسفور والبوتاسيوم والماغنسيوم والحديد . وتوجد هذه العناصر في جميع الفطريات حيث تدخل فى تركيب البروتينات .

تشبه خلايا الفطريات ما عدا الفطريات الهلامية خلايا النباتات من حيث المظهر العام ، ولكل خلية جدار صلب ، إلا أن التركيب الكيميائى لجدار الخلية الفطرية ليس متشابها فى جميع الفطريات حيث يكون السليلوز فى بعض الأنواع المكون الرئيسى لجدار الخلية ، وفى معظم أنواع الفطريات ، وخاصة الطرز الأرقى ، فإن جدار الخلية يتكون بالدرجة الرئيسية من مادة الكيتين جلوكان Chitin-Glucan تشبه الكيتين الذى يغطى جسم الحشرات والتى هى عبارة عن بوليمر ، وحداته هى أستيل جلوكوز أمين (AGA) ويسمى بالسليلوز الفطرى . ولقد أظهرت الدراسات الدقيقة بواسطة المجهر الإلكترونى أن مادة الجدار الخلوى تتكون من طبقة واحدة أو عدة طبقات من ألياف دقيقة Microfibers تكون مطمورة داخل المادة الأساسية .

ويحتوى سيتوبلازم الخلية الفطرية على أجزاء صغيرة تسمى ميتوكوندريات Mitochondria وهى تشبه إلى حد كبير نظرائها التى توجد فى النباتات الخضراء . ولها أهمية كبيرة فى عملية النشاط الحيوي المتعلقة بالبناء والهدم . ويختلف شكل الميتوكوندريات تبعاً انوع الفطر وأطواره المختلفة خلال دورة حياته . كما يتأثر ذلك أيضاً بالمؤثرات الخارجية والظروف البيئية التى

يعيش فيها الفطر . كذلك توجد الفجوات والجليكوجين والقطرات الزيتية ومواد أخرى بصورة إعتيادية في السيتوبلازم أما حبيبات النشا فلا توجد على الإطلاق في الفطريات إذ يحل محله الجليكوجين Glycogen . وتوجد الدهون والأحماض العضوية بشكل واضح في الخلايا الفطرية ولكن كمياتها قليلة تصل إلى من ١ : ٢ % من الوزن الجاف للأجسام الحجرية . كذلك يشاهد في أغلب الفطريات مادة الفوليوتين Volutine وهي حبيبات غير كبيرة موزعة في البروتوبلازم وهي تتركب من أحماض نووية متحدة مع الفوسفات ومواد عضوية أخرى .

وتكون النواة واضحة في خلايا الفطريات ومركبة تركيباً منظما كما في النباتات الراقية . وفي الفطريات التي تكون خيوطها هيفات غير مقسمة بحواجز عرضية تكون الأنوية منتشرة بصورة متجانسة خلال السيتوبلازم ، أما كل خلية من خلايا الخيوط المقسمة بحواجز عرضية فيحتوى على نواة واحدة أو نواتين أو أكثر . وذلك حسب نوع الفطر والطور الذي يمر به ، خلال دورة حياته ، وتوجد حالات تكون فيها الخلية الفطرية محتوية على عدد كبير من الأنوية كما في حالة الفطر نيوروسبورا كراسا Neurospora crassa الذي يصل عدد الأنوية فيه إلى حوالي المائة في الخلية الواحدة وحجم النواة الفطرية دقيق إذ يتراوح قطرها عادة بين ١ إلى ٣ ميكرون وشكلها عادة كروي ومحاطة بغشاء نووي ومزدوج توجد به ثقوب تعمل كممرات لتبادل المواد الغذائية ، وغيرها بين النواة والسيتوبلازم . وخاصية وجود غشاء نووي محدد في الفطريات يمثل أحد الفروق المهمة التي تميز الفطريات عن الأكتينوميستات المعروفة باسم الفطريات الشعاعية .

وبفضل المجهر الإلكتروني أمكن تمييز النوية Nucleolus والكروموسومات داخل النواة ، ورغم صغر حجم الكروموسومات في الخلايا الفطرية فقد أمكن تحديد عددها في بعض الفطريات ، ولكن كثيراً ما تكون هذه

الكروموسومات الصغيرة فى حالة متجمعة مما يصعب معه تمييز رؤيتها بوضوح وإجراء عدها بدقة .

ونظراً لإختلاف الطحالب عن الفطريات إختلافا جوهرياً من حيث خلوها من البلاستيدات الخضراء وصبغ الأنثوسيانين Anthocyanin فإن لون الفطريات تسببه بعض الأصباغ ذات الطبيعة الكيماوية المختلفة ، وهذه الأصباغ تكون موجودة فى الأغلفة الخلوية ، أو فى البروتوبلازم أو فى الفجوات ولكن ليس لها أى دور وظيفى أو فسيولوجى فى حياة الخلية . إذ أنها تمثل فقط إحدى النواتج الإيضية الخلوية وقد تفرز خلايا الفطر هذه الأصباغ إلى الخارج فتلون الوسط الذى ينمو عليه الفطر بألوان مميزة مثل تلك التى تكون فى الأوساط الغذائية لفطريات البنسليوم والأسبرجيللس وأكثر هذه الأصباغ عبارة عن أصباغ عضوية مختلفة .

التغذية :

لما كانت الفطريات خالية تماماً من البلاستيدات الخضراء ، فإنها تعجز عن أن تعيش بذاتها بل لابد لها من الإعتماد على غيرها من الكائنات الحية الأخرى أو المواد العضوية الميتة لإستيفاء إحتياجتها من المواد الغذائية لاسيما المواد الكربوهيدراتية . ولذلك فهى مضطرة للحصول عليها من الكائنات الحية أو المواد الميتة أى أنها تعتبر من الكائنات غير ذاتية التغذية ، فالفطريات التى تعيش على غيرها من أحياء سواء إنسان أو حيوان أو نبات تعرف بالمتطفلة Parasites ، أما التى تعيش على بقايا عضوية أو مخلفات حيوانية ، أو نباتية فتعرف بالمترممة Saprophytes ، والتى تنتهج معيشة تكافلية ، أى تبادل منفعة مع غيرها من الكائنات تسمى بالفطريات المتكافلة Symbiotic fungi وتستطيع بعض الفطريات التى تكون عادة طفيلية أن تعيش أيضا معيشة رمية فى غياب عائلها ، كما أن بعض الفطريات المترممة يمكنها أيضاً أن تلجأ إلى

التطفل على الكائنات الحية ، خلال طور من أطوار حياتها ، أو تحت ظـــروف معيشية أخرى .

التكاثر Reproduction

تستطيع الفطريات أن تتكاثر بطرق مختلفة منها التكـــاثر اللاجنســـى Asexual reproduction والذى يسمى أحيانا بالتكاثر الجســـدى Somatic أو الخضرى Vegitative ولا يدخل فيه إتحاد بين انوية أو خلايا أو أعضاء . أما التكاثر الجنسى Sexual reproductive فيتميز بوجود إتحـــاد بـــين نـــواتين جنسيتين . ويمكن إستعراض طرق التكاثر باختصار كالآتى :

التكاثر اللاجنسى Asexual reproduction

تتكاثر الفطريات لا جنسياً بواسطة خلايا مختلفة الأشكال والأحجـــام تنتج أفراد جديدة دون إتحاد بين أنوية أو خلايا أو أعضاء ذكرية وأنثوية ويعد هذا النوع من التكاثر أكثر شيوعا من التكاثر الجنسى وبخاصة أن دورة حيـــاة الفطر اللاجنسية تتكرر غالباً أكثر من مرة خلال موسم نمو الفطـــر ، بينمـــا يظهر الطور الجنسى فى كثير من الفطريات مرة واحدة فقط فى نهايـــة دورة الحياة . ومن طرق التكاثر اللاجنسى الشائعة فى الفطريات الآتى :

١- التكاثر الخضرى Vegitative reproduction

يعتبر تفتت وتجزؤ الهيفات fragmentation وإنفصالها من الطـــرق المألوفة لتكاثر الفطريات ، بحيث إذا تفتت الخيط الفطرى لعدة وحدات تكـــون كل وحدة محتوية على خلية سليمة أو أكثر فإن هذه الأجزاء الفطرية تســـتطيع أن تعطى غزلاً فطرياً إذا هيأت لها الظروف الغذائيـــة المناســـبة والظـــروف البيئية المواتية وفى أغلب الأحيان تستخدم خاصية تفتت الغزل الفطـــرى فـــى المعمل للمحافظة على نمو المزارع الفطرية على البيئات الصناعية ، وذلـــك بنقل قطع صغيرة من الغزل الفطرى إلى منابت حديثة لبدء مستعمرة جديدة .

٢- الإنشطار المستعرض Transverse fission

ويحدث هذا النوع من التكاثر غالباً فى الفطريات وحيدة الخلية مثل الخميرة وهو يشبه ما يحدث فى الخلايا البكتيرية وفيه تأخذ كل خلية فى الإستطالة ثم تنقسم نواتها إلى نواتين ثم يتخصر وسط الخلية حتى تنفصل إلى خليتين كل خلية تحتوى على نواة واحدة .

٣- التبرعم Budding

يبدأ بظهور بروز خارجي من الخلية الأم يسمى برعم Bud وتنقسم نواة الخلية الأم أثناء تكوين البرعم وتنتقل إحدى النواتين البنويتين إليه ويأخذ حجم البرعم فى الإزدياد وهو مازال متصلاً بالخلية الأم ولا يلبث أن ينفصل عنها مكوناً فرداً جديداً . وقد تنتج فى بعض الأحيان سلسلة من البراعم لتكوين غزلا فطرياً قصيراً ويحدث التبرعم فى الخميرة وبعض فطريات التفحم .

٤- تكوين وحدات خاصة Special units formation

تستطيع كل وحدة لا جنسية تحت الظروف المناسبة أن تعطى غزلاً فطرياً جديداً وهذه الوحدات اللاجنسية ما هى إلا بمثابة طرز نمو بمعنى أنها ليست مهيأة للصمود ضد الظروف الصعبة ، ولكنها تعد بمثابة وحدات لسرعة إنتشار الفطر أثناء الظروف المواتية . وبعض هذه الوحدات اللاجنسية ما هى إلا أجزاء مهياة داخلياً وفسيولوجياً للصمود ضد الظروف غير الملائمة ومن أمثلة الوحدات اللاجنسية التى تعد بمثابة طرز نمو أكثر منها جراثيم حقيقية الأويدات Oidia (مفردها Oidium) أو الجراثيم المفصلية Arthrospores حيث تتكون بالتخصر الجزئى بين الخلايا لكنها تحتفظ كل وحدة بكافة خواصها الأصلية وتنتشر مثل هذه الطريقة بين بعض الفطريات المتطفلة لكى تستطيع أن تنتشر أثناء وجود العائل وتوفر الظروف البيئية المواتية .

٥- الأجسام الحجرية Sclerotia

بعض الفطريات الحقيقية وخاصة الفطريات الزقية تتجمع فيها الهيفات الفطرية لتكوين جسم صلب محكم يسمى الجسم الحجرى Sclerotium وتمتلئ خلاياه بالمواد الغذائية وهذه الأجسام ما هى إلا تركيبات كامنة أو ساكنة تمكن الفطر من تحمل الظروف غير الملائمة وعند تحسن الظروف البيئية والغذائية فإن تلك الأجسام الحجرية تنبت معطية وسادة أو أكثر Stroma (الجمع Stromata) .

٦- جراثيم كلاميدية Chlamydospores

فى بعض الفطريات الحقيقية تغلف الخلايا بجدار سميك قبل الإنفصال عن بعضها البعض مع تخزين مواد غذائية فتسمى عندئذ بالجرثومة الكلاميدية وهى إما أن تكون مفردة أو فى سلاسل وأحياناً تكون طرفية أو بينية وتعمل كجراثيم كامنة أو ساكنة وتستطيع بذلك مقاومة المؤثرات المناخية غير الملائمة وعندما تتهيأ لها الظروف البيئية والغذائية فإنها تنبت معطية ميسليوم جديد .

الجراثيم Spores

تعد الجراثيم أكثر طرق التكاثر اللاجنسى شيوعاً بين الفطريات وتتفاوت فى اللون والشكل والحجم وعدد الخلايا فقد تكون شفافة أو غامقة اللون ويعتبر الميكرون هو الوحدة المعيارية فى قياس الجراثيم وذلك لدقتها ويختلف طول وقطر الجرثومة من ميكرون واحد أو أقل إلى ملليمتر واحد أو أكثر قليلاً وهى توجد إما منفردة او على صورة تجمعات .

وتنقسم الجراثيم حسب الكيفية التى تحمل بها وطرق تكوينها إلى مجموعتين:

أ) الجراثيم السابحة Zoospores

وتتكون داخل حافظة يطلق عليها zoosporangium وتظهر هذه الجراثيم فى دورة حياة كثير من الفطريات المائية أو التى تعيش فى وسط رطب والجرثومة السابحة عبارة عن كتلة بروتوبلازمية عارية ذات أشكال

مختلفة ومزودة بسوط أو أكثر يساعدها على السباحة . وتختلف الأسواط فى عددها ومكانها فهى إما أن تكون أمامية أو خلفية أو جانبية .

الجراثيم الداخلية

وهى تتكون داخل حافظة أو كيس ومن أشكالها :

ب) الحوافظ الجرثومية Sporangiospores

وتتكون داخل أكياس أو حوافظ جرثومية Sporangia وتتميز بأنها غير مسوطة أى غير متحركة Nonmotile وتحاط عادة بجدار خلوى وعندما تتضج فإنها تنطلق من الحافظة بعد تمزقها أو تحللها وتعتمد فى إنتشارها على التيارات الهوائية وهذا النوع من الجراثيم تنتجها عادة الفطريات الأرضية بوفرة حيث تنثرها الرياح وعند سقوطها على بيئة ملائمة تنبت لتعيد دورة حياة الفطر وتحمل الحوافظ الجرثومية عادة على هيفا متخصصة تسمى حامل الحافظة الجرثومية Sporangiophore كما فى فطر عفن الخبز *Rhizopus stolonifer*

الجراثيم الخارجية Exospores

ويطلق عليها الجراثيم الكونيدية conidiospores أو الكونيديات conidia (المفرد conidium) وهذه الجراثيم غير متحركة تتتظم خارجياً على التراكيب المولدة لها وهى الحوامل الكونيدية conidiophores كما فى فطر الأسبرجيللس والبنسيليوم وتختلف الجراثيم الكونيدية فى الشكل واللون والحجم والترتيب وعدد الخلايا . وهى توجد إما منفردة كما فى فطر بيثيوم وفيتومنثورا أو فى سلاسل كما فى فطر البنسيليوم والأسبرجيللس أو فى مجاميع تبقى معلقة داخل قطرة مخاطية على شكل رأس لامع كما فى شبة الجنس سيفالوسبوريم . وبعض الفطريات ينتج شكلاً واحداً من الجراثيم الكونيدية إلا أن معظمها ينتج أكثر من شكل قد يصل فى بعض الأحيان إلى

أربعة أشكال . ويتوقف تصنيف كثير من الفطريات على شكل وحجم هـذه الجراثيم الكونيدية ولونها وهذه الكونيديات إما أنها تتولد مباشرة من الأغزال الفطرية أو على حوامل منبثقة منها جانبياً. وكما سبق فإن هذه الكونيـديات تختلف من حيث أحجامها وألوانها وما تحتويه من أصباغ وطريقة إنقسـامها الداخلية فهى إما مقسمة بحواجز عرضية إلى عدد من الخلايا كما هى الحال فى الجراثيم الكونيدية لفطر فيوزاريم *Fusarium* sp. أو تظهـر الحـواجز العرضية والطولية وتصبح كتلة من الخلايا كما هو الحـال فـى الجـراثيم الكونيدية لفطر ألترناريا *Alternarai* sp. كل هذه المعايير تعد من الأهمية بمكان لتصنيف الفطريات والتعرف عليها .

وتجدر الإشارة إلى أن الحوامل الجرثومية تتكون بصـورة منفـردة على سطح الميسليوم أو تتكون بصورة متجمعة فى الداخل أو على تركيبات خاصة تختلف فى الشكل ومنها :

(أ) البكنيدة أو الوعاء البكنيدى pycnidium وهو يشبه الدورق أو الفنجـان ويكون عادة مدفوناً فى الوسط الذى ينمو عليه الفطر وبـه فتحـة ostile تخرج منها الجراثيم التى تسمى الجراثيم البكنيدية pycnidiospores على حالة كتل أو لولب طويل أو خيوط رفيعة .

(ب) Acervule وهو تركيب قليل الإنخفاض طبقى الشكل يتكون من وسادة هيفية تحمل حوامل قصيرة تتكون عليها الجراثيم الكونيدية التى تتعرض للخارج بعد تمزق بشرة النبات العائل .

(ج) Sporodochium وهو يشبه التركيب السابق إلا أن الوسـادة الهيفيـة واضحة التكوين والحوامل الكونيدية متزاحمة ومتداخلة وطويلـة وعـادة يظهر هذا التركيب فى كثير من الفطريات .

التكاثر الجنسى Sexual reproduction

معظم الفطريات الحقيقية تتكاثر جنسياً بإستثناء الأفراد التابعة لمجموعة الفطريات الناقصة Fungi imperfecti التابعة لعائلة Deuteromycetes الذى يكون فيها الطور الجنسى غائباً أو غير معروف . ويتضمن التكاثر الجنسى فى الفطريات الحقيقية إندماج نواتين متوالفتين من مشيجتين إحداهما أو كلاهما متحرك أو من خليتين خضريتين لنفس الثالوس. ويوجد ثلاث مراحل مميزة لعملية التكاثر الجنسى فى الفطريات والتى تحدث عادة بصورة متتابعة وتتلخص فى عملية الإقتران البلازمى Plasmogamy والتى يطلق عليه أحياناً بالإتحاد الخلوى وفيه يحدث إندماج بين بروتوبلاستى خليتين مما يعمل على إقتران النوى داخل الخلية . ثم تليها عملية الإقتران النووى Karyogamy وهى الخطوة الثانية فى التكاثر الجنسى وفيه تندمج نواتان كلاً منهما أحادية المجموعة الصبغية Haploid (N) لتكوين نواة اللاقحة وهى ثنائية المجموعة الصبغية Diploid (2N) . وأخيراً تأتى عملية الإنقسام الإختزالى Meiosis وهو الطور الثالث من أطوار التكاثر الجنسى وهو يلى الإقتران النووى مباشرة أو بعد فترة وفى هذا الطور تبدأ النواة الثنائية المجموعة الصبغية بالإنقسام الإختزالى والذى ينتج عنه إختزال عدد الصبغيات مرة أخرى إلى عدد من الأنوية أحادية المجموعة الصبغية لتدخل فى تكوين الجراثيم الجنسية . وتحدث تلك العمليات الثلاث فى دورة الحياة الجنسية الحقيقية فى تتابع منتظم وفيما يلى وصف لمختلف الطرق التى يتم بها إقتراب الأنوية المتوالفة فى عملية الإقتران البلازمى . وهنا نجد بعض الفطريات تنتج الأعضاء التناسلية على نفس الثالوس الفطرى ويسمى ثالوس خنسى Hermaphroditic أو متشابهة الثالوس Homothalic وبذلك يستطيع مثل هذا الثالوس أن يتناسل بمفرده . وهناك ثالوس ثنائى المسكن Heterothalic وهذا النوع يعجز عن التناسل جنسيا بمفرده ، ويتحقق عادة بأحد الأنماط الأربعة التالية:

١- تزاوج جنسى متشابه الأمشاج Isogamy حيث يحدث التزاوج بين أمشاج تتشابه شكلاً وحجماً والتى تنتج من حوافظ مشيجية متشابهة Isogametangia .

٢- تزاوج جنسى متباين الأمشاج Heterogamy والتى ينتج من حوافظ مشيجية متباينة Heterogametangia وفيه يحدث تزاوج بين أمشاج تتباين شكلاً وحجماً حيث تتميز إلى أمشاج كبيرة وأخرى صغيرة ولا يحدث التزاوج إلا بين كل مشيج كبير وآخر صغير وتعرف الحوافظ المشيجية المنتجة للأمشاج الكبيرة بالحوافظ المشيجية الكبيرة الأنثوية ويحدث ذلك عادة فى الفطريات البدائية .

٣- فقدان الأمشاج لأهدابها وبقائها داخل الحافظة المشيجية **Gametangia** الكبيرة المنتجة لها وفى هذه الحالة يعرف المشيج الكبير بالبيضة Oosphere أما الحافظة المشيجية الكبيرة فتعرف باسم الأوجونة Oogonium أو الأسكوجونة Ascogonium أما الحافظة المشيجية الصغيرة فتعرف عندئذ باسم الإنثريدة Antheridium وتعرف الأمشاج الصغيرة التى تنتجها باسم الساعات الذكرية والخطوة التطورية فى التناسل الأوجونى أن أحد الأمشاج يظل ساكناً ومستقراً بينما يتحرك الآخر ومن ثم تزيد فرصة اللقاء بين هذه الأمشاج .

٤- هناك طراز رابع من التناسل الجنسى يتميز به فطريات العفن دون غيرها من الفطريات وهو يختص بالتزاوج أو الإتحاد بين أجزاء خضرية من الخيط الفطرى كما فى فطر رايزوبس ستولونيفر.

الأهمية الإقتصادية Economic importance

تقوم الفطريات بدور هام فى إحداث التغيرات المستمرة التى تحدث بالطبيعة بسبب دوام وجودها وأعدادها المدهشة إذ تعد الفطريات هى

المسئولة بوجه خاص إلى جانب البكتيريا عن تحليل المادة العضوية وإطلاق غاز ثانى أكسيد الكربون CO_2 الذى تستخدمه النباتات الراقية فى عمليات التمثيل الضوئى . ويوجد على سطح التربة الزراعية كميات هائلة من الفطريات ففى جرام واحد من التربة الزراعية يوجد عشرات وربما مئات الألوف من الفطريات المجهرية ونتيجة للنشاط المستمر لهذا العدد الهائل ترتفع خصوبة التربة الزراعية وبالتالى يزداد المحصول .

وكثير من الفطريات لها تأثيرات ضارة وتأثيرات مفيدة فمن تأثيراتها الضارة أنها مسئولة عن معظم الأمراض التى تصيب النباتات المختلفة ذات القيمة الإقتصادية كأشجار الفاكهة والزينة ونباتات الخضراوات والمحاصيل المختلفة والتى تسبب عرقلة نمو النباتات ومن ثم تؤثر على كمية وجودة المحصول. وبعض الفطريات تسبب أمراضاً كثيرة للإنسان والحيوان وان نوعاً منها يسبب تسمماً يسمى بالتسمم الإيرجوتى Erogotism الذى يصيب كلاً من الإنسان والحيوان عند تناوله حبوب القمح والشوفان المصابة ويسببه الفطر المسمى كلافيسبس بيربوريا *Clavicepes purpurea* ويرجع السبب إلى ما تحتويه الأجسام الحجرية للفطر من أشباه القلويات السامة .

وللفطريات أيضاً تأثيرات مرضية على الإنسان والحيوان (Mycosis) فبعضها يسبب أمراضاً جلدية وباطنية وإلتهابات فى المسالك التنفسية فقد وجد أن بعض الفطريات يعيش متطفلاً على الإنسان ويسبب له بعض الأمراض الجلدية مثل مرض القراع العسلى حيث تتم بسببه إصابة الجلد وخاصة فروة الرأس والشعر بنوع من الفطر الطفيلى *Trycophyton* sp. كما أن هناك بعض الأمراض الجلدية التى تسببها أنواع من الفطريات الخيطية . كما أن بعض أنواع فطر الأسبرجيللس يسبب أمراضاً وإلتهابات مختلفة للأذن الوسطى للإنسان حتى أصبح علم الفطريات

الطبى أحد فروع التخصص فى ميدان الطب . ومن الأضرار الأخرى للفطريات أنها تسبب تلف الأخشاب وتحللها فيتسبب عن ذلك هدم المنازل والجسور والسكك الحديدية وأعمدة الخطوط السلكية وخاصة فى المناطق الباردة والمناطق الإستوائية ومن أمثلة هذه المجموعة من الفطريات *Polyporus* sp. و *Fomes* sp. إذ أنها تسبب تحلل وتآكل الألياف والورق والبضائع الجلدية والمنسوجات وتسبب أيضاً تلف المواد الغذائية وتعفنها وخاصة إذا توفرت لها الرطوبة الكافية ودرجة الحرارة الملائمة .

ولكن على الرغم من الأضرار البالغة التى تسببها الفطريات لمختلف الكائنات الحية الأخرى إلا أن لبعضها تأثيرات مفيدة للإنسان ويمكن تلخيصها فيما يلى :

١- تسبب تحلل المواد العضوية إلى مركبات بسيطة فتزيد خصوبة التربة الزراعية لما تحدثه من تغيرات متعددة يستفيد منها النبات وبالتالى الحيوان وبذلك فهى تساهم فى التخلص من تراكم المواد العضوية .

٢- تقوم بدور فعال فى مجال التصنيع الغذائى حيث تفيد فى تحضير بعض أنواع الجبن كما فى أنواع الجنس بنسيليوم *Penicillium requeforti*

٣- تدخل بعض الفطريات فى غذاء الإنسان الأساس حيث تستهلك إما بحالتها الطازجة أو المجففة أو المملحة ومن أهمها فطريات عيش الغراب Mushrooms . وكان الإنسان قديماً يجمع فطريات عيش الغراب من الحقول والغابات وأصبح الآن يزرعها ويضاعف إنتاجها ويجدر الإشارة هنا إلى أنه يوجد أنواع سامة من عيش الغراب يطلق عليها لفظة Toods tools لا يمكن تمييزها من الناحية الشكلية عن الأنواع التى تستعمل كغذاء للإنسان ولكنها تختلف عنها فى التركيب الكيميائى فيكون بعضها غير مأمون العاقبة تماماً . والطريقة الوحيدة المأمونة التى يمكن

معرفة الأنواع غير السامة والصالحة للأكل من فطريات عيش الغـراب هى الإلمام بصفات أنواع الأفراد المألوفة من الفطر وذلك باستخدام معاجم مناسبة مع التدريب الكافى . وفى أوروبا يستعمل الإنسان أكثر من ١٥٠ نوعا في غذائه ولكن أشهرها وأجودها النوع المسـمى *Boletus edulis* وأجاريكس بايسبورس *Agaricus bisporus* وأجـاريجس كامبسـتريس *A. campestris*

٤- تعتبر الفطريات مصدراً لبعض المواد الإقتصادية ، كالإنزيمات وبعض مضادات الحيوية كالبنسلين والذى تنتجه فطريات تابعة لجنس البنسـليوم *Penicillium*

٥- تستخدم الفطريات كأنواع الجنس أسبيرجيللس فى تحضير وإنتاج الكثير من الأحماض العضوية كحمض الستريك والخليك .

٦- تعتبر الفطريات مصدراً لبعض الفيتامينات مثل فيتامين (ب) المركب .

٧- تستعمل بعض أنواع الفطريات صناعيا مثل فطر الخميرة فى تحضـير المواد الكحولية فى دول الغرب بالإضافة إلى أن الخميـرة المضـغوطة تضاف إلى العجينة المستخدمة فى عمل الخبز لتخميرهـا حيـث يجعـل الرغيف خفيفاً ومنتفخاً وذا مسام وتام النضج مستساغ للمستهلك .

٨- تستعمل الأجسام الحجرية Sclerotia فى فطـر *Claviceps purpurea* لتحضير عقاقير خاصة لإستحداث تقلصات الرحم ومنع النزيـف أثنـاء الولادة مما يجعل أمر الولادة ميسراً .

الفصل الخامس :
شكل وتركيب الخلية البكتيرية

شكل وتركيب الخلية البكتيرية

Shape and structure of bacterial cell

أولاً : الشكل المظهرى للبكتيريا Bacterial Morphology

تشتمل الدراسات المظهرية للخلية البكتيرية علـى معرفـة حجمهـا Cellular size وشكلها Cellular shape وطريقة تجمع الخلايـا Cellular arrangement وطريقة تحركها Motility .

ومن ناحية الشكل فإن الخلايا الفردية من البكتيريـا إمـا أن تكـون مستديرة أو عصوية أو منحنية قليلاً أو كثيراً أو ذات عدة إنحنـاءات لتظهـر بشكل حلزوني أو بريمي . وعلاوة على ذلك فإن خلايـا بعـض الأنـواع البكتيرية قد تنظم نفسها في تجمعات ثابتة ومختلفة منها التجمعات المزدوجة أو العنقودية أو السبحية . ويتحتم على الدارسين معرفة هذه التجمعات لأهميتهـا في الأغراض التصنيفية .

حجم الخلية البكتيرية

تتراوح أبعاد معظم البكتيريـا العصـوية ٢-٥ × ٠,٥-١ ميكـرون (الميكرون µ = ١/١٠٠٠ مـم) ، والخلايـا الكرويـة مثـل Streptococci وStaphylococci يتراوح قطرها بين ٠,٧٥-١,٢٥ ميكرون . والعصـويات القصيرة مثل البكتيريا التي تسبب التيفود أو الدوسنتاريا يتراوح عرضها بـين ٠,٥-١ ميكرون والطول ٢-٣ ميكرون . وهناك بكتيريا لها شكل الخيوط قد يصل طولها إلى ١٠٠ ميكرون أو أكثر كما هو الحال في الأكتينوميسـتات . ولتوضيح مدى صغر حجم الخلية البكتيرية فإن البوصة المكعبة الواحدة تكون كافية لإحتواء ٩ تريليون Trillion من الخلايا العصوية متوسطة الحجـم وأن

١ جرام يحتوى تقريباً على تريليون من الخلايا البكتيرية . وعادة فإن الفحص المجهرى للبكتريا فى المعمل يتم بعد تكبيرها ما يقرب من ١٠٠٠ مرة .

ودقة حجم البكتيريا له أهمية للخلية نفسها فمثلاً نجد نسبة السطح إلى الحجم فى البكتيريا كبيراً جداً عنها فى الكائنات الأخرى ففى حالة الكرويات الصغيرة فإن نسبة السطح إلى الحجم Surface area / volume يصل إلى ١٢٠٠٠٠ ، وفى حالة الكائنات الأكبر حجماً مثل الأميبا إذا ما أعتبرنا أن شكلها كروى وقطرها يصل إلى ١٥٠ ميكرون نجد النسبة بين مساحة السطح والحجم ٤٠٠ ، وفى حالة الخلايا الأكبر حجماً مثل بيض الدجاج تصل النسبة فقط ١,٥ . أما فى الكائنات الكبيرة تقل النسبة إلى أقل من الوحدة . وتلك الزيادة الكبيرة فى قيمة مساحة السطح إلى الحجم والتى تتمتع بها البكتيريا تفسر لنا كيف أن للبكتيريا نشاطاً أيضياً كبيراً وسريعاً وذلك لأن كل التفاعلات الأيضية تتم على سطحها الكبير نسبياً .

ومساحة السطح الخارجى للخلية له أهمية عند تقدير سرعة إمتصاص الغذاء من الوسط الخارجى وكذلك إحداث التغيرات الكيماوية حيث أنه كلما كبر السطح الخارجى بالنسبة للوزن كان من المنتظر أن تزداد سرعة إمتصاص الغذاء من الوسط المحيط وأيضاً سرعة تحلله وعلى أساس هذه النظرية يمكن فهم أسباب إستهلاك البكتيريا لكميات غذائية ضخمة ، وكذلك التغيرات الكيماوية الكثيرة التى تحدثها .

ولما كانت سرعة إمتصاص الغذاء وتحويله تزداد بزيادة هذا السطح. كانت سرعة البكتيريا فى الإمتصاص تفوق كثيراً سرعة الأحياء الراقية ولذلك يمكن لخلية بكتيرية والتى لها القدرة على تخمير سكر اللاكتوز أن تستهلك مثل وزنها من اللاكتوز خلال ساعة واحدة من ١٠٠٠ إلى ١٠٠٠٠ مرة فى حين يستهلك الإنسان ١٠٠٠ مرة مثل وزنه خلال ٢٥٠٠٠٠ ساعة.

شكل ونظام تجمع الخلايا البكتيرية Shape and arrangement of bacterial cells

بالرغم من تعدد النواع البكتيرية إلا أن شكلها الظاهرى ينحصر بين الشكل الكروى Spherical أو العصوى Rodlike أو إسطوانية Cylindrical أو حلزونى Hellicoidal or spiral .

أولاً : الخلايا الكروية Spherical cells

والخلايا الكروية يطلق عليها cocci (مفرد Coccus) وكثير من هـ البكتيريا لها نظام تجمع ثابت له أهمية فى أغراض التعريف . فمنها ما يتجمع فى أزواج Diplococci مثل بكتيريا Neisseria gonorrehae أو فى سلاسل أو بشكل سبح Streptococci مثل بكتيريا Streptococcus lactis ، أو تتجمع فى أربع خلايا مرتبة على شكل رباعى منتظم Tetrads مثل Pediococcus sp. ، أو تتجمع الخلايا بشكل عناقيد تشبه عنقود العنب Staphylococci مثل Staphylococcus aureus ، أو تتجمع الخلايا فى صورة فردية أو فى تجمعات غير منتظمة ومنها Micrococcus sp. أو ترتيب مكعبى (مكعب مكون من ٨ خلايا أو مضاعفاتها) Sarcina مثل Sporosarcina ureae .

وهذا التجمع الثابت للبكتيريا الكروية يمكن تفسيره نتيجة دخولها فى عمليات الزيادة فى العدد أو التكاثر للأنواع المختلفة من البكتيريا. فالبكتيريا تتكاثر أساساً عن طريق عملية تسمى الإنقسام الثنائى Binary fission فالخلية المفردة تنقسم عرضياً لتكوين خليتين جديدتين وبعد الوقت المناسب فإن الخلية الكروية تنقسم فى مستوى واحد Single plane وتتكون خليتان تبقى كل منهما متصلة بالأخرى . بعد فترة أخرى من الوقت سيحدث إنقسام آخر وتتكون أربع خلايا فيتكون زوجان من الخلايا الكروية ويعتبر هذا ترتيب أو تجميع arrangement وفيه يسود إزدواج الكرويات Diplococcus عقب الإنقسام .

وإذا حدث التكاثر فى مستوى واحد مثل السابق ولكن تظل الكرويات متصلة بعد عديد من الإنقسامات المتتالية فسيعطى ذلك مظهر السلسلة

Streptococcus والإسم مشتق من الكلمة اليونانية Streptos ، وهـى تعنـى سبحة أو خيط ، لذلك يطلق عليها البكتيريا السبحية . ويلاحظ أن بعض الـ Streptococci تكون متميزة بتكوين سلاسل قصيرة مثلاً ٤-٦ خلايا فى حين أن أنواعاً أخرى تكون سلاسل طويلة . وتوجد أنواع أخرى تنقسم فى ثلاثـة مستويات ولكن بدون نظام معين ينتج عنها عناقيد منتظمة Staphylococcus

الخلايا الكروية التى تنقسم بالتتابع فى مستويين Two planes علـى زوايا قائمة تكون مربعات من ٤ خلايا تسمى Tetrads . وأخيراً فإن بعض الكرويات تنقسم فى ثلاث مستويات على زوايا قائمة لتكون مكعبـات مـن الخلايا Sarcinae ، وهى مشتقة من الكلمة اللاتينية Sarcina وتعنى علبة أو حزمة أو مكعب . وقد يحتوى المكعب الواحد على ٨ خلايا أو ١٦ خليـة أو ٣٢ خلية ، وهكذا كل من نماذج تجمعات الخلايا تعتبر صفة مميزة لنوع أو جنس معين من البكتيريا الكروية . وعند وصف الشكل الظـاهرى للخلايـا الكروية فإن نظام التجمع أو الترتيب للخلايا يجب أن يوصف بدقة ويلاحـظ أنه نادراً ما تكون كل الخلايا فى نوع معين ترتب فى نظام نموذجى ولكـن الترتيب أو التجمع السائد يكون هو الصفة الأساسية .

ثانياً : الخلايا العصوية Rodlike cells

الخلايا البكتيرية عصوية الشكل أى التى تشبه العصـا Rodlike ، تسمى Bacillus وجمعها Bacilli ، لا ترتب نفسها فى نماذج متميزة ثابتـة مثل الخلايا الكروية إلا أنها أحياناً ما تشاهد فى أزواج يمكن أن يطلق عليها Diplobacilli أو فى سلاسل يمكن أن يطلق عليها Streptobacilli . وفـى كثير من الأحيان لا يكون هذا الترتيب ثابتاً ولا يمثل نموذجاً مورفولوجيـاً مميزاً بل يعزى إلى مرحلة النمو أو إلى ظروف البيئة الغذائية التى تنمو فيها البكتيريا أو قد يعزى إلى نمط الزراعة ما إذا كانت فـى مزرعـة سـاكنة Stagnant culture أو مهتزة Shake culture

فى أحيان قليلة يكون للبكتيريا العصوية الميل إلى إنتاج تجمعات من الخلايا تقع الواحدة بجوار الأخرى مثل عيدان الكبريت او بشكل الحروف الصينية ، وقد تسمى بالترتيب العمادى Palisade arrangement وذلك من مميزات الجنس *Corynebacterium* . وتختلف البكتيريا العصوية كثيراً فى ابعادها فمنها أنواع تكون خلاياها متوسطة الطول ، وأنواعاً أخرى يكون طول خلاياها أكثر قليلاً من عرضها ، فى حين أن أنواعاً أخرى يكون طول خلاياها أكبر بعدة مرات من عرضها .

ثالثاً : الخلايا الحلزونية Spiral cells

البكتيريا ذات الشكل الحلزونى Spiral shaped bacteria تسمى Spirillum وجمعها Spirilla غالباً توجد كخلايا مفردة غير متصلة . والخلايا الفردية للأنواع الحلزونية المختلفة تظهر أشكالاً مختلفة من حيث الطول وعدد الإنحناءات وصلابة الجدر الخلوية . بعضها قصير وتعتبر عصا صغيرة منحنية والبعض الأخر يكون طويلاً ويظهر سلسلة من الإنحناءات والإلتواءات . والخلايا القصيرة والتى تكون حلزون غير كامل أو تحتوى على إنحناءة واحدة تسمى Comma (Vibrio) ، وسميت هكذا لأنها تشبه الكوما أو الضمة . ومعظم البكتيريا تحت الدراسة تكون من البكتيريا الحقيقية Eubacteria والتى ينطبق عليها الصفات سالفة الذكر ، وهى ذات خلايا مفردة تكون كروية أو عصوية ذات جدار صلب ولا تكون خيوطاً Trichomes أو أغلفة Sheaths أو حوامل Stalks وتتكاثر أساساً عن طريق الإنقسام العرضى Binary fission .

رابعاً أشكال أخرى للبكتيريا Other bacterial shape

أ- أكتينوميسيتات Actinomycetes

هذا ويصنف مع البكتيريا عموماً كائنات تختلف فى صفاتها عن البكتيريا الحقيقية من الناحية المورفولوجية فتظهر أجسامها بشكل خيوط كما

فى حالة الأكتينوميسيتات . والخيوط ذات تفرع حقيقى وتعرف بالهيفات وهى غير مقسمة بجدر عرضية وتشبه هيفات الفطريات الطحلبية Phycomycetes إلا أنها أدق منها حجماً وهذا هو السبب الحقيقى لتصنيفها مع البكتيريا . ويصل سمك هيفات الأكتينوميسيتات ١ ميكرون فى حين أن هيفات الفطريات الطحلبية لا يقل سمكها عن ٥ ميكرون . وتتكاثر الأكتينوميسيتات فى أبسط تركيباتها بتجزئة هيفاتها مكونة أجزاء فردية عصوية أو دائرية الشكل ، إلا أن الأفراد الراقية من الأكتينوميسيتات مثل أنواع الجنس *Streptomyces* فهى تنمو لتكون ميسليوماً حقيقياً ويكون مستعمرات واضحة ذات مظهر طباشيرى جاف على بيئة الأجار المغذى ، كما تكون أيضاً ميسليوماً هوائياً عبارة عن هيفات قائمة تشبه كثيراً هيفات الفطريات . وتتكاثر هذه الأفراد بتكوين نوع من الجراثيم التى تحمل على نهايات الهيفات القائمة تعرف بالجراثيم الكونيدية والتى تشاهد فى سلاسل مستقيمة أو منحنية .

ب- الكورينى بكتيريا Corynebacteria

وقد ضمت الكورينى بكتيريا *Corynebacteria* إلى مجموعة الأكتينوميسيتات لوجود تشابه مورفولوجى بينهما . والكورينى بكتيريا عصويات مستقيمة أو منحنية قليلاً لا تصطبغ بإنتظام بالصبغات العادية نظراً لكثرة إحتواء خلاياها على حبيبات Granules . وغالباً تظهر بالخلايا إنتفاخات بحيث تظهر كأنها صولجانية الشكل أو تظهر بشكل متفرع ، وهذا ما دعى لضمها إلى مجموعة الأكتينوميسيتات . والخلايا لها ميل لتكوين تجمعات من الخلايا تقع الواحدة بجوار الأخرى مثل عيدان الكبريت وقد تسمى بالترتيب العمادى Palisade arrangement أو بشكل الحروف الصينية . وهى غالباً غير متحركة وموجبة لجرام مثل البكتيريا المسببة

لمرض الدفتيريا *Corynebacterium diphteriae* وهى النوع المثالى لهـذا الجنس البكتيرى .

ج- الميكوبكتيريا Mycobacteria

ضمت هذه البكتيريا إلى الأكتينوميسيتات ، وهى عصويات مستقيمة أو قليلة الإنحناء ، لمظهرها شبه المتفرع فى بعض الأحيان . قد تكون خيوط سرعان ما تتكسر إلى وحدات صغيرة عصوية أو كروية . عندما تصبغ هذه البكتيريا بصبغة الفوكسين القاعدى المذاب فى محلول مـائى للفينـول فـإن الخلايا تقبل الصبغة ، ولا تخرج الصبغة منهـا عنـد معاملتهـا بـالكحول الحامضى ، وهذه الصبغة تعرف بالمقاومـة للأحمـاض Acid fastness . وأكثر الأنواع التى ينطبق عليها هذه الظاهرة هى البكتيريا المسببة لمـرض السل *Mycobacterium tuberculosis* .

د- البكتيريا الهلامية Myxobacteria

وهناك مجموعة أخرى من البكتيريا ذات تركيب مورفولوجى خاص تسمى البكتيريا الهلامية Myxobacteria . والخلايا الفردية لها القدرة علـى التحرك حركة إنزلاقية لذلك سميت بالبكتيريا المنزلقـة Gliding bacteria رغم عدم إمتلاكها لأعضاء خاصة بالحركة . وهذا يوضح أن خلاياها أكثر مرونة من خلايا معظم المجاميع البكتيرية الأخرى . وتتميـز خلايـا هـذه المجموعة بقدرتها على التغير فى شكلها فتصبح أقصر طولاً متخذة الشـكل البيضى أو الكروى ثم تحيط نفسها بجدار خارجى سميك، وتعـرف الخليـة عندئذ باسم الحويصلات Microcysts وهذه ترتبط ببعضها بطبقـة هلاميـة سميكة مكونة لما يعرف بالجسم الثمـرى Fruiting body . وفـى بعـض الأنواع تتخذ الأجسام الثمرية أشكالاً مميزة تكون جالسـة أو ذات عنـق أو أعناق مختلفة الشكل وعادة تكون الأجسام الثمرية ملونة بألوان منها الأصفر أو البرتقالى أو الأحمر .

هـ- البكتيريا المعنقة Stalk bacteria

وهذه المجموعة من البكتيريا يتكون لها أعناق شبه صلبة semisolid stalks من مواد عضوية وأكاسيد الحديد والمنجنيز كما في أجناس *Gallionella* وهي بكتيريا سالبة لجرام تنتشر بالتربة الزراعية حيث تلعب دوراً هاماً في أكسدة الحديد والمنجنيز .

ثانياً : تركيب الخلية البكتيرية Bacterial cell structure

لا يختلف تركيب الخلية البكتيرية كثيراً عن باقى الخلايا الحية إلا أن هناك بعض الإختلافات التى تميز الخلية البكتيرية عن غيرها من الخلايا . فبعضها يغلف من الخارج بطبقة هلامية مخاطية تعرف بـ الغلاف Capsule مكون من السكريات العديدة . وغالبية خلايا البكتيريا له جدار يختلف فى التركيب الكيماوى عن الجدر الخلوية للخلايا الأخرى . وهذا الجدار يحيط بالغشاء السيتوبلازمى Cytoplasmic membrane الذى يحدد ويحيط بدوره البروتوبلازم . ويظهر السيتوبلازم البكتيرى فى الصورة الإلكتروميكروسكوبية بمظهر حبيبى Granular cytoplasm ناتج عن وجود عدد كبير من الريبوسومات Ribosomes . وخلال السيتوبلازم توجد المنطقة النووية Nuclear area أو Bacterial nucloid وتظهر فى القطاعات الرقيقة مختلفة عن نواة النبات والحيوان فى أنها لا تنفصل عن المحتويات السيتوبلازمية بغشاء نووى Nuclear membrane بل إنها منتشرة فى السيتوبلازم Diffused in cytoplasm . ويوجد فى عديد من البكتيريا تركيب غشائى Membranous structure يسمى Mesosomes تكون بالقرب من المنطقة النووية أو مصاحبة للغشاء السيتوبلازمى . وتوجد أيضاً أنواع مختلفة من المحتويات حبيبية المظهر والتى تتركب كيميائياً من Lipid أو Volutin أو Metaphosphate . وقد يوجد فى السيتوبلازم خاصة البكتيريا الممثلة

للضوء عدداً من تراكيب تسمى حوامل الألـوان Chromatophores وهـذه الأعضاء تحمل الكلوروفيل البكتيرى ويحدث فيها التمثيل الضوئى . والجـدار الخلوى والخلية البكتيرية قد تغطى بزوائد تسمى فيمبريـا Fimbriae or pili مهمتها الإلتصاق فى البيئة أو الوسط المحيط أو الخلايا الأخرى . والبكتيريـا المتحركة Motile bacteria تمتلك على الأقل سوط واحد Flagellum (الجمع Flagella) يختلف توزيعها على سطح الخلية بإختلاف الأنواع والأجناس ، إلا أن هناك بكتيريا تتحرك بالرغم من غياب الأسواط أو أى أعضاء للحركـة . والأسواط عبارة عن تركيبات بروتينية طويلة ورقيقة .

ويمكن تسمية طبقة السطح والجدار الخلوى والغشـاء السـيتوبلازمى بالسطح الخلوى حيث يتم على هذه التركيبات الكثير من التفاعلات الأيضية . كما يجب ملاحظة أن الغشاء السيتوبلازمى يعتبر أيضاً ضـمن المحتويـات الداخلية للخلية والتى تشمل السيتوبلازم والجهاز النووى والحبيبات وغيرهـا من المكونات . وفيما يلى شرحاً مبسطاً لكل من التراكيب الأساسـية للخليـة البكتيرية لمعرفة تركيبها والوظائف الحيوية التى تقوم بها .

أولاً : السطح الخلوى Cellular surface

١ - الأسواط Flagella

ومفردها Flagellum وهى تشبه الشعيرات وهـى وسـيلة الحركـة الأساسية حيث يمكن أن تقسم البكتيريا على أساسها إلـى مجمـوعتين وهـى بكتيريا متحركة وبكتيريا غير متحركة . وكما أوضحنا أن الشعيرات المسـماه بالأسواط أرفع من هيفات الفطر ، ويختلف تواجدها على سطح الخلية فمنهـا أسواط طرفية حيث تخرج من طرف واحد أما سوط واحد أوعديدة الأسواط أو من الطرفين أو تكون موزعة على سطح الخلية ويتركب السوط مـن ثـلاث أجزاء الأول هو الجسم القاعدى Basal body وهو ملتصق بالغشاء البلازمى

للجدار الحلوى . ثم الخطاف hook وهو جزء قصير ويحمل السوط ، والجزء الخير هو الخيط Filament وهو خيط طويل وقد يساوى طول الخلية أو اكثر.

ولا يعرف تركيب الجزء القاعدى ودوره إلـى الآن أمـا الخطـاف والخيط فيتركبا من بروتين يسمى Felagellin ويتم نمو السوط من طرفـه بدرجة أكبر من نموه من الجسم القاعدى .

٢- البيلى **Pili**

ومفردها Pilus وقد تسمى Fimbria وهى زوائد فارغة تكون أرفع من الأسواط وأقصر منها وهى وسيلة للحركة ولكن لها وظيفة أخرى فتعتبر F-pili ذو وظيفة جنسية حيث تمر المواد الوراثية عند حدوث عملية التكاثر الجنسى أو ما يسمى بالتزاوج . ويلعب pili دوراً هاماً فى حياة البكتيريا الممرضة حيـث يلتصق بالعائل وتساعد فى إحداث العدوى . كذلك فإنها تلعب دوراً فى عمليـة إصابة الخلية بالفيروس المتخصص Bacteriophge حيث تساعد فـى جـذب الفيروس المتخصص للسلالة البكتيرية . كذلك وجد أن لها دوراً فـى مسـاعدة الخلية فى النمو فى الأوساط السائلة عند نقص كمية الأكسجين .

وهى تظهر فى البكتيريا المتحركة وغير المتحركة فهى إذن لا علاقـة لها بالحركة . والبيلى تغطى سطح الخلية بأعداد تصل لعدة مئات . وهى مثـل الأسواط تتكون من وحدات من البروتين الذى يعرف باسم البيلين Pilin تلتـف حول تجويف محورى .

وقد لوحظ أن البكتيريا E. coli تحمل عدداً قليلاً من البيلى يعـرف F-pili ويعتقد أن هذا النوع ذا أهمية لإعتبار الخلية معطية للمادة الوراثيـة أثنـاء التكاثر الجنسى . ويختفى هذا النوع من على الخلايا عندما يزال منها العامل F ولكنها تعود للظهور مرة أخرى عندما تكتسب الخلية العامل F . من ذلك نـرى أن نقل الكروموسوم من خلية إلى أخرى أثناء التزاوج يعتمد على وجود الـ F-

pili . وأن كان من غير المعروف على وجه اليقين أن إنتقال الكروموسوم من الخلية المعطية إلى الخلية المستقبلة يكون خلال الـ Pili . ومن المحتمل أن الـ Pilus يكون ضروري فقط في تقارب أو تصاحب الخليتين أثناء عملية التزاوج.

٣- الغلاف Capsule

تحاط بعض البكتيريا بطبقة لزجة viscous layer أو هلامية Slime تسمي الغلاف ، وقد تذوب المواد الهلامية في البيئة وعلى ذلك فتزداد لزوجة البيئة الغذائية وبذلك فانه في الحالة الأخيرة قد لا يظهر الغلاف حول الخلية. وقد يصعب أيضاً تحديد طبقة الغلاف على بعض الخلايا لقلة سمكها وتعرف في هذه الحالة بالغلاف الدقيق Microcapsule . والتركيب الكيماوى للغلاف يختلف بإختلاف النوع وقد يختلف حتى فى نفس النوع من سلالة لأخرى .

ويلاحظ أنه توجد أنواع من البكتيريا لا تحتوى على غلاف أو تفقدها دون أن يؤثر ذلك على حيويتها ومعدل نموها . وفى بعض الأحيان تتأثر طبقة الغلاف بعوامل البيئة . ويلاحظ ذلك في البكتيريا التى تتكون أغلفتها من Dextran (Polyglucose) أو من Levan (polyfractose) وهذه عديدات التسكر تتخلق فقط من السكروز وليس من غيره من السكريات مثل ما يحدث ببكتيريا *Leuconostoc mesenteroides* فهي تكون مستعمرات صغيرة فى وجود الجلوكوز ومستعمرات مخاطية كبيرة نتيجة لتكوين طبقة الغلاف فى وجود السكروز . وقد يتحول السكروز عند صناعة قصب السكر إلى مواد هلامية عديمة القيمة فى عصير القصب عندما يتلوث بواسطة هذه البكتيريا مما يسبب مشاكل فى صناعة السكر . وللكبسول وظائف عديدة منها أنها تعمل على حماية الخلية من الجفاف ، يلعب دوراً في الإلتصاق مع البكتيريوفاج فى البكتيريا المصابة بالفيروس ، وقد يعلب دوراً فى تثبيط عملية تأثير خلايا كرات الدم البيضاء على البكتيريا الممرضة ، قد يساعد فى إلتصاق البكتيريا على السطوح ،

هذا علاوة على أنه إذا إحتوى الكبسول على شحنات كهربية مثل ما يحدث في حالة أحماض اليوريك المرتبطة بالسكر Sugar – Uranic acids فإنه يزيد من ثبات المعلق البكتيرى وذلك بتكوين شحنات متشابهة للموجودة فى الوسط .

وينعكس وجود أو غياب طبقة الغلاف على شكل المستعمرة . فغياب الغلاف يسبب تكون مستعمرات خشنة Rough colonies (R) ووجود الغلاف يسبب تكون مستعمرات ناعمة Smooth colonies (S) ، وقد تكون طبقة الغلاف كبيرة فتتكون مستعمرات مخاطية Mucoid colonies (M) ، وقد توجد مستعمرات ذات درجات متوسطة بين النعومة والخشونة تسمى Intermediate colonies (I) . ووجود طبقة الغلاف تكون مرتبطة عادة بالقدرة الإمراضية Virulence للبكتيريا ففى حالة البكتيريا *Streptococcus pneumoniae* التى تسبب إلتهاب رئوى فإن المستعمرات الناعمة (S) تكون قادرة على إحداث العدوى أما المستعمرات الخشنة (R) من نفس النوع البكتيرى تكون غير قادرة على إحداث المرض حيث أن الخلايا غير المغلفة تكون أسهل فى التحطم بواسطة النظام الدفاعي للجسم المصاب . وعلى ذلك فللغلاف أهمية كبيرة بالنسبة للبكتيريا فهو يعتبر وسيلة لحماية الخلية من النظم الدفاعية الموجودة فى جسم الإنسان أو الحيوان . وقد يحدث تطفر فى شكل المستعمرة فتظهر مستعمرات خشنة (R) فى مجموع من مستعمرات ناعمة (S) .

٤- الجدار الخلوى Cell wall

يقع الجدار الخلوى قبل الغشاء البلازمي والزوائد الخارجية سابقة الذكر للخارج . والجدار الخلوى صلب يعطى للخلية شكلها ويحافظ عليها من الإنفجار نتيجة دخول الماء من الوسط الذى تنمو فيه إلى داخل الخلية . وذلك لأن الضغط الإسموزى خارج الخلية أقل منه داخل الخلية فقد يؤدى ذلك إلى البلزمة بواسطة الموجات فوق الصوتية أو إلى الإنفجار حسب مقدار الضغط.

ويمكن عزل الجدار الخلوى لتحليله بواسطة تمزيقه ميكانيكيا بواسطة الموجات فوق الصوتية ultrasonic أو في وجود مواد مثل الرمل أو مقطع الزجاج مع الطحن الشديد أو تغيير الضغوط المتعرض لها الجدار ثم الطرد المركزى على سرعات مختلفة لعزل مادة الجدار الخلوى . وللجدار الخلوى دور فى النمو والإنقسام لأن الخلية الخالية من الجدار protoplast ليست لها القدرة على النمو الإنقسام الطبيعى . ويمثل الجدار الخلوى حوالى ١٠ – ٤٠ % من الوزن الجاف للخلية .

جدار الخلية البكتيرية عبارة عن تركيب صلب يعطى شكل الخلية ، لدرجة أنه لو أزيل من الخلايا العصوية أو الحلزونية فإن البروتوبلاست الناتج يتخذ الشكل الدائرى مباشرة . وسمك الجار الخلوى حوالى ١٠ – ٨٠ nm وهو يكون ٢٠ % من الوزن الجاف للخلية . والجدر الخلوية ذات تركيب كيماوى معقد يختلف من نوع بكتيرى إلى آخر .

يتركب الجدار الخلوى من peptidoglycan والتى تسمى murein وهو غير ذائب ويشترك فى كل من البكتيريا غير الحقيقية ومجموعة البكتيريا الحقيقية Eubacteria وهو عبارة عن سلاسل من N-acetylmuramic acid متصلة بروابط مع N-acetylglucose amine ، ويوجد العديد من الأحماض الأمينية متصلة بالهيكل الأساسى للجدرا الخلوى مثل أحماض الألانين والجلوتاميك . وتوجد مجموعة من بكتيريا Archaeobacteria و Eubacteria وهى تشمل *Methanobacterium* وهى تحتوى فى جدارها الخلوى على بروتينات متحدة مع polysaccharides أو عديدات التسكر ، وتقسم إلى مجموعتين كبيرتين حسب مدى قابليتها للصبغ بواسطة الكريستال البنفسجى وتسمى هذه بصبغة جرام وتشمل هاتان المجموعتان بكتيريا سالبة لجرام وأخرى موجبة لجرام ويرجع ذلك إلى التركيب الخلوى لجدار الخلية .

وتعرف صبغة جرام Gram stain أيضا بتفاعل جرام وهى من أهم الإختبارات التى تجرى على البكتيريا ، وهى طريقة من طرق الصبغ المركب أو الصبغ التفريقى أوجدها العالم Christian Gram سنة ١٨٨٤ لتقسيم البكتيريا إلى مجموعتين كبيرتين . ويشترط لإجراء هذا الإختبار التفريقى أن تكون المزرعة حديثة العمر وتتم بمعاملة الغشاء بصبغة الكريستال البنفسجى ثم اليود ثم الغسيل بالكحول فتغسل الصبغة البنفسجية من البكتيريا السالبة ولا تغسل فى الموجبة ، ولتسهيل رؤية الخلايا فى المجموعة الأولى فتستعمل صبغة أخرى تسمى صبغة عكسية أو صبغة مضادة ذات لون مختلف مثل السفرانين Safranin أو الفوكسين حمراء اللون .

وقد يرجع الإختلاف بين البكتيريا الموجبة لجرام والسالبة لهذا التفاعل إلى أن سطوح الخلايا الموجبة لجرام أو الجزء القريب من السطح يحتوى على ملح الماغنسيوم لحامض الريبونيوكليك Ribonucleic acid وهذا يكون مع كل من البروتين الخلوى وصبغة الكريستال البنفسجى واليود مركب معقد بنفسجى اللون يثبت فى الخلية ولا يذوب فى الكحول فتصبح الصبغة مقاومة للإزالة عند الغسيل بالكحول . أما البكتيريا السالبة لصبغة جرام فإن التركيب الكيماوى لسطح خلاياها لا يحتوى على ملح حمض الريبونيوكليك والماغنسيوم وبالتالى لا تكون المركب المعقد فيسهل غسيل الصبغة بالكحول . ويلاحظ أن بعض المزارع الموجبة لجرام قد تفقد إيجابيتها وذلك عندما تتقدم الخلايا فى العمر ، وعند إرتفاع حموضة البيئة ، وعند المعاملة بإنزيم Ribonuclease ، علاوة على أنه إذا سحقت الخلايا الموجبة لجرام مع برادة الزجاج لتكسير جدرها فإن بقايا الخلايا المهشمة تفقد إيجابيتها لجرام .

وللجدار الخلوى دوراً واضحاً فى تفاعل جرام فإن جدر بعض الخلايا الموجبة لجرام يمكن أن تذاب تماماً بواسطة إنزيم Lysozyme ، فإذا صبغت

مثل هذه الخلايا بصبغة جرام ثم عوملت بالإنزيم فإن البروتوبلاست يظل محتفظاً بالصبغة مما يدل على أن الخلية نفسها وليس الجدار هو مكان تفاعل جرام في حين انه يمكن أن يزال اللون من البروتوبلاست عن طريق الغسيل بالكحول مما يدل على أن جدار الخلايا الموجبة لجرام يمثل حاجزاً Barrier يمنع غسيل معقد الصبغة Day complex للخارج .

التركيب الكيماوى Chemical composition

التركيب الكيماوى للجدار الخلوى البكتيرى هو المسئول عن صلابته حيث أن الهيكل الأساسى للجدار الخلوى البكتيرى يتكون من الميكوببتيد Mucopeptide الذى يطلق عليه ميورين Murein أو Peptidoglycan . وأن نسبته فى الجدار يتراوح بين ٥٠ – ٨٠ % فى معظم البكتيريا الموجبة ومن ١ – ٥ % فى البكتيريا السالبة لجرام . كما أنه لا يوجد فى البكتيريا المحبة للملوحة Halobacteria . و'ميكوببتيد المحضرة والمفحوصة من كل المصادر تحتوى على نوعين من السكريات الأمينية وهما حمض أستيل ميوراميك N-acetylmuramic acid والأسيتايل جلوكوز أمينN-acetyglucoseamine مع وجود عدد محدود من الأحماض الأمينية فى روابط ببتيدية وهى L-alanine و D-glutamic acid و Diamionopimelic acid و L-lysine .

ويعتقد حالياً أن تركيب الميكوببتيد ما هو إلا سلسلتين من السكريات الأمينية كل منها تتكون من الأسيتيل جلوكوز أمين بالتبادل مع حمض الأسيتيل ميوراميك ، وهاتين السلسلتين هى فى الواقع سلاسل من عديدات التسكر قد تتصلان عرضياً بواسطة سلسلتين قصيرتين من عديدات الببتيد ذات عدد معين من الأحماض الأمينية السابق ذكرها . وفيما يلى وصفاً موجزاً للتركيب الكيماوى للجدر الخلوية سواء للبكتيريا الموجبة أو السالبة لجرام .

أ- البكتيريا الموجبة لجرام Gram positive bacteria

أما البكتيريا الموجبة لجرام فيقل محتوى جدرها من الدهون أو لا توجد إطلاقاً باستثناء الـMycobacteria فإن ٦٠ % من الوزن الجاف من الجدار يكون دهون وتحتوى على نسبة عالية من السكريات الأمينية ١٥ – ٢٠ % وعلى عدد محدود من الأحماض الأمينية . معظم الجدر الخلوية الموجبة لجرام عبارة عن طبقات متراصة فوق بعضها من الميكوببتيد وتتصل كل طبقة بالتى هى أعلى منها والتى هى أسفل منها بواسطة سلاسل قصيرة من عديدات الببتيد وبذلك يتكون تركيب قوى صلب . وأن طبقة الميكوببتيد فى البكتيريا الموجبة لجرام تُعتبر متجانسة وعادة تكون أكثر سمكاً من كل الطبقات فى البكتيريا السالبة لجرام . وبالإضافة للميكوببتيد التى تمثل ٥٠ % من الوزن الجاف للجدار فإن معظم البكتيريا الموجبة لجرام تحتوى على مركب إضافى هو Teichoic acid ، والتركيب الشائع منه هو عبارة عن تكرار لوحدات من الجليسيرول المرتبط بالـD-alanine والفوسفات أو قد يكون تكرار لوحدات من الريبيتول Ribitol مرتبط مع الجلوكوز و D-alanine .

ويلاحظ أن الـTeichoic acid عامل غير مهم فى صلابة الجدار الخلوى ، وعند فحص قطاعات رقيقة من الجدر الخلوية للبكتيريا الموجبة لجرام بالمجهر الإلكترونى لم توضح وجود طبقة منفصلة من هذا المركب وعلى ذلك فعند وجوده يكون ضمن تركيب طبقة الميورين .

ويوجد إنزيم يمكن تحضيره من بياض البيض يعرف باسم الليزوزيم Lysozyme يحلل الرابطة (B 1-4) بين الأسيتيل جلوكوز أمين وحمض الأسيتيل ميوراميك وأن بكتيريا مثل *Bacillus megaterium* يمكن تحليلها Lysed بواسطة هذا الإنزيم ما لم تتم المعاملة فى Hypertonic medium حيث يذوب الجدار الخلوى ويظهر البروتوبلاست . كذلك يعمل وجود البنسلين فى الوسط الغذائى على منع تكون الجدار الخلوى وكذلك يؤدى نفس الغرض

غياب العناصر الغذائية الضرورية لبنائه . وتحليل الميكوببتيد يؤدى إلى غياب الجدار الخلوى وأن البروتوبلاست يظل محاطاً بالغشاء البروتوبلازمى والذى يتخذ الشكل الكروى والذى يسمى سفيروبلاست Spheroplast نظراً لإستدارته وإتخاذه شكل الدائرة . ومن المحتمل أن تكون هذه الأجسام قادرة على القيام بعمليات البناء الحيوى بالرغم من عدم إستطاعتها تكوين الجدار الخلوى .

ب- البكتيريا السالبة لجرام Gram negative bacteria

وعموماً فإن جدر البكتيريا السالبة لجرام تحتوى على نسبة عالية من الدهون تبلغ ١٠ – ٢٠ % من الوزن الجاف للجدار ، وسكريات أمينية بنسبة منخفضة تتراوح بين ٢ – ٥ % من الوزن الجاف للجدار ، وتحتوى على عدد كبير من الأحماض الأمينية التى توجد فى البروتينات . يحتوى الجدار الخلوى فى البكتيريا السالبة لجرام على طبقة الميورين (الميكوببتيد) ولكنها أقل فى السمك بكثير من الموجودة فى جدر الخلايا الموجبة لجرام . كما أن طبقة الميورين فى جدر الخلايا السالبة لجرام تكون غالباً من طبقة رقيقة ولكنها تمثل ١٠ % من الوزن الجاف للجدار . والبكتيريا الوحيدة السالبة والتى سجل أنها تحتوى على Teichoic acid هى *E. coli* . والبكتيريا السالبة لجرام تحتوى جدرها أيضاً على طبقة من Lipopolysaccharide و Lipoprotein و Phospholipid تحيط بطبقة الميورين . وطبقة الـ Lipopolysacchride تغطى كل طبقة الميورين .

ثانياً : البروتوبلاست Protoplast

إن كل ما يقع بداخل الجدار الخلوى يعرف باسم البروتوبلاست . وكما سبق أن بينا أنه يمكن عزل البروتوبلاست سليما ، كما يمكن الإحتفاظ به فى حالة ثابتة نامياً فى بيئات ذات ضغط إسموزى منتظم . والبروتوبلاست يشمل الآتى :

١- الغشاء السيتوبلازمي The cytoplasmic

ويسمى أيضاً بالـ Protoplasmic membrane or plasma memebrane وهو يقع تحت الجدار مباشرة وسمكه حوالي ٥ nm ولا يشاهد بطرق الصبغ العادية ولكن أمكن إثبات وجوده أما عن طريق جعل المحتويات الخلوية تتكمش بعيداً عن الجدار ، أو بالصبغ بطرق خاص ، أو بالطرق الحديثة باستعمال الميكروسكوب الإلكتروني .

وهو غشاء شبه منفذ Semipermeable له دوراً أساسياً في حماية الخلية وحفظ كيانها وله نفاذية إختيارية Selective membrane حيث يتحكم في مرور المواد الغذائية وكذلك نواتج النمو من وإلى الخارج . وأي ضرر لهذا الغشاء بطريقة فيزيائية أو كيميائية قد يؤدي إلى موت الخلية وقد لا يمكن التعرف على الضرر الحادث مورفولوجياً كما لا يمكن الإستدلال عليه ميكروسكوبياً . وأي تغيير يحدث في الغشاء السيتوبلازمي يفقده القدرة على التحكم في مرور المواد وبذلك فإن مواداً حيوية قد تخرج خارج الخلية وأن مواداً أخرى قد تكون ضارة تدخل الخلية . وعادة يتركب الغشاء السيتوبلازمي من دهون فسفورية Phospholopids وبروتين وهو يمثل حوالي من ١٠ - ٢٠ % من الوزن الجاف للخلية . علاوة على ذلك يخرج من الغشاء السيتوبلازمي الأسواط المسئولة عن حركة الخلايا ويوجد فيه الصبغات الخاصة بالتمثيل الضوئي .

والغشاء السيتوبلازمي يحتوي على عديد من الأنشطة الإنزيمية مثل النظم السيتوكرومية Cytochrome systems وعديد من الإنزيمات المزيلة للأيدروجين Dehydrogenases . وعلى ذلك فإن معظم تفاعلات الأكسدة البيولوجية والإختزال تتم في هذه الأغشية وذلك لإنتاج الطاقة . ومن الوظائف الرئيسية للغشاء البروتوبلاستي تخليق الجدار الخلوي لإحتوائه على الإنزيمات المسئولة عن ذلك . وله دوراً فعالاً في عملية النقل النشط Active

transport للمواد المختلفة مثل الأحماض الأمينية والسكريات والمعادن التى تحتاجها الخلية بتركيز أعلى داخل الخلية من تلك التركيز الموجود خارجها .

٢- Mesosomes **Chondrioides**

معظم البكتيريا الموجبة لجرام وقليل من السالبة لجرام تحتوى علـــى أجسام غشائية تسمى Peripheral bodies ذات أغشية مختلفة غالباً ما تكـــون إمتدادات من أغشاء البروتوبلاستى وتوجد بالقرب من المنطقة النووية أو عند مكان منطقة تكوين الجدار العرضى خاصة وقت إنقسام الخلية ، وقد يدل ذلك على أن تكوين الحاجز العرضى عند إنقســـام الخليـــة يعتمـــد علـــى وجـــود الـــMesosomes التى تعتبر أيضاً مكان لإنزيمات تنفس الخلية وإنتاج الطاقة. كذلك وجد أن لها دوراً خاصاً فى تكوين الجدار العرضى فى البكتيريا الموجبة لجرام . علاوة على أنها تعتبر مركز للتحكم فى الإنقسام الخلـــوى المنـــتظم . كذلك أوضحت بعض الأبحاث أن للميزوسوم دوراً فى تكوين الجراثيم للخلايا البكتيرية المكونة لها .

ولا توجد أدلة قاطعة للتأكد من أن هذه هى وظائفها الحقيقيـــة ولكـــن توجد بعض الأدلة على الوظيفة الأولى وهى الأساسية وذلك لقـــدرتها علـــى ترسيب Formazans وهـــى الصـــورة المختزلـــة لمركبـــات التيتـــرازوليم Tetrazolium وهى فى ذلك تشبه الميتوكوندريا .

٣- المواد النووية Bacterial nuclei

إن إمكانية مشاهدة الجهاز الوراثى النووى بالخلية البكتيرية Chromatin bodies أصبح الآن من الأمور السهلة بعد أن كان من المتعذر فى الماضى . ومما يزيد صعوبة تمييز الأجسام النووية فى خلايا البكتيريا فى الماضى هو الإعتقـــاد بضرورة وجود النواة داخل حدود معلومة كما هو الحال فـــى خلايـــا النباتـــات والحيوانات حيث يوجد غشاء نووى ونوية وسائل نووى . وقد تمكن بعض الباحثين من صبغ DNA فى الأجسام النووية ومشاهدته وهو فى حالات مختلفة من الإنقسام

بعد معاملة الخلايا معاملات خاصة لتخليصها من المحتويات النووية الأخرى مثل RNA والتى لا تمت إلى النواة بصلة والتى كانت تختلط فى مظهرها بعد الصبغ مع الأجسام النووية . وبعد إزالة هذه المحتويات يمكن مشاهدة الجهاز الوراثى النووى بعد صبغه بالصبغات المتخصصة مثل صبغة Feulgen . وفى الصور الإلكتروميكروسكوبية يمكن أن تظهر الأجسام الكروماتينية كمنطقة شفافة أى قليلة الكثافة لها شكل غير منتظم خلال السيتوبلازم . وقد أمكن حديثاً عن طرق الميكروسكوب الإلكترونى إظهار أن النواة فى البكتيريا عبارة عن شريط مزدوج يتكون من DNA عارى وقد يتخذ هذا الشريط المزدوج شكل حلقة مقفلة . وأن محتوياته من الجينات تمثل وحدة عبورية مفردة . وقد نشاهد بداخل الخلية الواحدة أكثر من وحدة دائرية أو كروموسوم دائرى واحد . إذن فما نشاهده من محتويات نووية لا يمكن مساواته بأى حال من الأحوال بكروموسومات الكائنات الأرقى حيث أنها تنقسم مباشرة دون المرور فى أطوار الـ Mitosis أو الـ Meiosis.

ومن المعروف أن نسبة الـ Cytosine (C) + Guanine (G) فى الـ DNA تعتبر صفة ثابتة للنوع البكتيرى وتتراوح بين ٢٢ % لبعض انواع من الميكوبلازما إلى ٧٤ % فى بعض البكتيريا .

٤ - الإيبيسومات والبلازميدات Episomes and Plasmids

يطلق إصطلاح Episomes على تركيبات عبارة عن أجزاء من الـ DNA والتى قد توجد فى الخلية البكتيرية خارج الكروموسوم البكتيرى . وفى هذه الحالة تكون قادرة على تكرار نفسها مستقلة عن تكرار الكروموسوم البكتيرى ، وفى بعض الأحيان قد تتصل بالكروموسوم وفى هذه الحالة لا تتكرر إلا عند حدوث تكرار للكروموسوم . وقد تلعب هذه الأجزاء دوراً هاماً فى نقل المادة الوراثية بين البكتيريا مثل عامل الخصوبة F-factor الموجود فى البكتريا *E. coli* K-12 . كما يطلق اسم الـ Plasmids على العناصر الوراثية DNA التى توجد فى السيتوبلازم ولا ترتبط بالكروموسوم ولا تدخل فى تركيبه .

٥- الريبوسومات Ribosomes

يطلق هذا الاسم على الحبيبات ذات القطر من ١٠ – ٢٠ nm والتـــى تتركب من بروتين وحمض ريبونيوكليك RNA-Protein particles وتســمى Ribonucleoprotein وهى التراكيب التــى يــتم عليهــا بنـــاء البـــروتين . والريبوسومات البكتيرية من النوع 70 S ribosomes . وتتكون الريبوسومات من وحدتين S 30 و S 50 حيث يتم إتحادها أثناء بناء البروتين .

٦- حوامل الألوان Chromatophores

تحتوى البكتيريا الممثلة للضوء على صبغات وكذلك إنزيمـــات تخـــتص بتحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيمائية . وتحمل هذه الصبغات والإنزيمات فـــى تراكيب خاصة ذات أغشية تسمى حوامل الألوان كمـــا فـــى بكتيريـــا الكبريـــت القرمزية التابعة لعائلة Chromatiaceae وبكتيريا الكبريت غير القرمزية التابعـــة لعائلة Rhodospirillaceae . وهذه الأغشية عبارة عن إمتـــدادات مـــن الغشـــاء السيتوبلازمى بأشكال مورفولوجية مختلفة فتكون فى بعض البكتيريا على صورة حويصلات Vesicle أو على صورة أجسام أنبوبية أو على هيئة طبقات متراصه. وجهاز التمثيل الضوئى فى بكتيريا الكبريت الخضراء Chlorobiaceae يوجد فى صورة أكياس داخليـــة Internal sacs وتســـمى Chlorobium vesicles وهـــذه الأكياس ليست إمتدادات للأغشية السيتوبلازمية لذلك فهى لا تحاط بأغشـــية بـــل تحدد من الخارج بطبقة واحدة من الكلوروفيل تقوم بعمل وتمثيل سطحها الخارجى

٧- السيتوبلازم Cytoplasm

وهو يشبه سيتوبلازم أى خلية أخرى حيث يحتوى على نشبة تتراوح بين ٧٠ – ٨٠ % ماء . ويصعب تخصيص أو تحديد هذا الجـــزء الخلـــوى ولكن يمكن التأكد على أن هذا الجزء يشتمل على أكثر من ٥٠ % من بروتين الخلية . وكذلك يحتوى على معظم النظم الإنزيمية بالخلية . هذا علاوة على ما يحتويه من مواد غذائية ذائبة لذلك فهو يوجد فى حالة غروية.

٨- المحتويات السيتوبلازمية Cytoplasmic inclusion

وتسمى أيضاً بالمواد المخزنة Storage materials حيث يتراكم في السيتوبلازم مواد مختزنة عند ما تنمى البكتيريا تحت ظروف بيئية معينة وهي حبيبات الجليكوجين Glycogen وقطرات الدهون Lipid droplets و Polymerized inorganic metaphosphate وهذه لا توجد عادة خلال فترة النمو النشط . أما حبيبات الكبريت Sulfur granules فهي تعبر ضرورية كمخزن للطاقة في بكتيريا الكبريت غير الممثلة للضوء ومن هذه المواد المخزنة الآتي :

أ- حبيبات الجليكوجين Glycogen granules

تظهر هذه الحبيبات Granulose مثل كرات شفافة بدون غشاء في الصور الإلكتروميكروسكوبية وقد تصل إلى ٥٠ % من الوزن الجاف . وتميل للتراكم تحت ظروف من نقص النيتروجين حيث تم دراستها في البكتيريا *E. coli* وعندما تزداد المواد النيتروجينية فإن الجليكوجين المتراكم يستهلك ويستعمل كمصدر للكربون .

ب- حبيبات الدهون Lipid droplets

وهذه الحبيبات توجد في عديد من أنواع جنس Bacillus وتعتبر ناتج تخزيني ويمكن صبغها بصبغات معينة مثل Sudan black .

ج- حبيبات الفوليوتين Volutin granules

وحبيبات الفوليوتين تميل للتراكم عند نهاية دورة النمو وتختفي من السيتوبلازم إذا نقلت الخلايا إلى بيئة جديدة . وهي تتركب من Metaphosphate غير عضوية وهي تسمى أيضاً Metachromatic granules

د- حبيبات الكبريت Sulfur droplets

في بعض البكتيريا يحدث ترسيب للكبريت داخل الخلايا عقب التمثيل الضوئي كما يحدث في بعض بكتيريا الكبريت .

الفصل السادس :

حركة وتجرثم الخلية البكتيرية

حركة وتجرثم الخلية البكتيرية

Motility and sporulation of bacteria cell

أولاً : الحركة البكتيرية Bacterial motility

معظم البكتيريا المتحركة Motile bacteria تمتلك أعضاء دقيقة وطويلة يطلق عليها أعضاء الحركة وتسمى الأسواط Flagella مفردها Flagellum . وقد لوحظت القدرة على الحركة فى البكتيريا التى لا تمتلك أعضاء للحركة مثل البكتيريا الهلامية *Myxobacteria* والبكتيريا الزاحفة مثل جنس *Beggiatoa* وجنس *Thiothrix* إلا أن سرعه هذه البكتيريا المفتقرة إلى أعضاء الحركة تعتبر متوسطة نسبياً إذ أنها لا تتجاوز ١/١٠ سرعة البكتيريا ذات الأسواط حيث أنها متحركة حركة إنزلاقية بطيئة على الأسطح الصلبة .

والأسواط هى خيوط دقيقة جداً من بروتين يسمى Flagellin تخرج من السيتوبلازم خلال الجدار الخلوى وينشأ السوط غالباً من جسم إسطوانى يسمى الجسم القاعدى Basal body خلال السيتوبلازم . وسمك السوط يتراوح من ١٢ إلى ٣٠ nm وقد يصل طوله إلى ١٠ µm . ولا يشاهد السوط بالميكروسكوب الضوئى إلا بطرق صبغ خاصة حيث يعامل الغشاء أولاً بمعمق للون Mordant وغالباً يكون محلول غروى غير ثابت والذى يرسب طبقة سميكة لمادة قابلة للصبغ فوق سطح الخلايا والأسواط . ويصبغ الغشاء بعد ذلك بصبغة مناسبة . وهذه المادة المرسبة تظهر بالميكروسكوب الضوئى كخيط مصبوغ والذى يمثل السوط نفسه . وأحسن طريقة لتحديد عدد الأسواط وتوزيعها على الخلية هو إستعمال الميكروسكوب الإلكترونى .

والسوط يكون متموج وطول الموجة غالباً يكون ثابــت للســلالة البكتيريــة الواحدة ويوجد توزيعان أساسيان للأسواط .

١- توزيع طرفي أو تسوط طرفي وفيه تحمل الأسواط عند طرف أو طرفــي الخلية Polar flagellation ، وقد يكون عديد من الأسواط عند طــرف أو طرفي الخلية Polar multitrichous flagellation ، أو سوط واحــد عنــد الطرف أو الطرفين Polar monotrichous flagellation .

٢- توزيع جانبي أو تسوط جسمي وفيه توجد الأسواط موزعة عند عدة نقــط على إمتداد جوانب الخليــة Peritrichous flagellation . ولقــد وصــف Leifson (1960) توزيع الأسواط على سطح الأنواع المختلفة من البكتيريا حيث يوجد تسوط طرفي Polar وفيها تكون قاعدة السوط موازية للمحــور الطولي للخلية وقد تكون وحيدة التسوط Monotrichous أو عديدة التســوط Multitrichous . أو تسوط تحت طرفي Subpolar ويوجد سوط واحد أو أكثر بالقرب من الطرف ، ونجد أن قاعدة السوط متعامــدة مــع المحــور الطولي لجسم الخلية وقد تكون وحيدة التسوط Monotrichous أو عديــدة التسوط Multitrichous . كذلك توجد بكتيريا جانبية التسوط Lateral وفيه تكون قاعدة السوط متعامدة على محور الخلية أيضاً ، وقد تكــون وحيــدة التسوط Monotrichous وفيه يوجد السوط دائماً على النصــف الوســطي للخلية أو عديدة التسوط Multitrichous وفيه يوجد عدة أسواط أو خصــلة من الأسواط على النصف الوسطي للخليــة . وهنــاك جســمية التســوط Peritrichous وفيه توزع الأسواط عشوائياً ما عدا الأطراف . أو مختلطة التسوط Mixed وفيه تحمل الأسواط على أطراف وجسم الخلية وجوانبها .

والأسواط تنشأ فى وقت واحد ومن خلال الغشاء السيتوبلازمى ، وقد ثبت ذلك من أن الأسواط تظل متصلة بالسيتوبلازم عندما تـزال الجـدر الخلوية الحساسة عند معاملتها بإنزيم Lysozyme .

ويتكون السوط من ثلاثة أجزاء ، الجزء الذى يظهر فى التحضيرات المصبوغة وهو الخيط Filament وهو من ألياف مـن البـروتين ويمكـن الحصول على معلق من هذه الخيوط عند pH ٣ – ٤ ، وعند معاملته بـأى Detergent فإن هذه الخيوط تعطى بروتين ذائب يسـمى Flagellin وهـذا البروتين يختلف فى التركيب الكيماوى بين الأنواع البكتيرية ولكـن يتميـز ببعض الصفات الثابتة مثل غياب Gysteine وإحتوائه على كميات قليلة من الأحماض الأمينية الحلقية وكميات كبيرة من حمض الجلوتاميـك وحمـض الأسبارتيك . الجزء الثانى فى السوط وهو الخطاف Hook ، وهو التركيـب الذى يخترق الجدار الخلوى ويصل الخيط بالجسم القاعدى وهو عبارة عـن تركيب ملتوى ومن المحتمل أنه يتكون من ألياف من البروتين .

الجزء الثالث فى السوط هو الجسم القاعـدى Basal body ، وهـو الذى يربط الخطاف والخيط بالغشاء السيتوبلازمى . وفى البكتيريا السـالبة لجرام فإن الجسم القاعدى يتكون من زوجين من الحلقات يتصلان بقضـيب يستمر فى داخل الخطاف . ويتعقد أن الحلقة الداخلية الأخيرة لزوج الحلقات القريب من مركز الخلية ترتبط بالغشاء السيتوبلازمى ، أما الحلقة الداخليـة من زوج الحلقات البعيد عن مركز الخلية فيحتمل أن تكون متصـلة بطبقـة الميورين Murein فى الجدار الخلوى . أما فى الخلايا الموجبة لجرام فـإن الجسم القاعدى يتكون من زوج من الحلقات . والحلقة القريبة مـن مركـز الخلية ترتبط بالغشاء السيتوبلازمى وغالباً لا يوجد إتصال مميز مع الجـدار الخلوى . ووجد أنه فى بعض البكتيريا مثل *Spirillum* sp. يوجـد غشـاء

قطبى Polar membrane (Polar plate) داخل الغشاء الســيتوبلازمى وأن الجسم القاعدى قد يكون متصل بهذا الغشاء القطبى .

والأسواط كما سبق أن ذكرنا هى أعضاء الحركـة الحقيقيـة فـى البكتيريا وهى تحرك الخلية فى البيئات السائلة والأغشية الرقيقة من السوائل فوق السطوح الصلبة . والطريقة التى تتحرك بها الخلايا عن طريق الأسواط هى نتيجة لإنقباض وإنفراج الجزيئات البروتينية المكونة للسوط نفسه وينتج عن ذلك حركة للسوط تشبه التموج وبذلك تجذب أو تدفع الخلية للأمام أو إلى الخلف . وتفسر حركة الخلية عن طريق الأسواط بإفتراض أن خيط الســوط ليس له أى دور فى الحركة ، وأن الحركة تنشأ نتيجة لحركة الجسم القاعدى المتصل بالغشاء السيتوبلازمى حركة دائرية من جانب إلــى جانــب ، وأن الخطاف والذى يعتبر تركيب صلب ينقل هذه الحركة التموجية إلــى الخــيط لينتج عن ذلك مخروط من الحركة الدائرية A cone of revolution ودوران الخيط نفسه يدفع الخلية إلى الأمام .

وتتحرك الأسواط بسرعة مرتفعة جداً وتتسبب فى حركة البكتيريــا على معدل يزيد عدة مرات على طولها فى الثانية الواحدة . وقدرت حركــة أسواط البكتيريا *Spirillum* sp. بمعدل يصل إلى ٢٤٠٠ لفة فى الدقيقة . وقد قدرت سرعة معظم الأنواع البكتيرية فوجــد أنهــا ٥٠ µ / ثانيــة ، إلا أن البكتيريا المسوطة طرفياً مثل البكتيريا *Vibrio* sp. تتحرك بســرعة أكبــر كثيراً تصل إلى ٢٠٠ µ / ثانية . من ذلك نرى أن الخلية يمكنها أن تتحرك بما يعادل خمسون مرة قدر طولها فى الثانية .

حركة البكتيريا التى تفتقر للأسواط Motility of unflagellated bacteria

تتميز أفراد البكتيريــا الهلاميــة *Myxobacteria* وأفــراد الجــنس *Beggiatoa* بالحركة الإنزلاقية Gliding movement . ومن الملاحــظ أن

هذه الحركة تحدث فقط فوق السطوح الصلبة ولا تحدث فى البيئات السائلة . وقد تتم الحركة نتيجة للإنقباضات التى تحدث لطبقة البروتوبلازم الرقيقة الموجودة تحت الجدار . وهناك تفسير آخر لحركة هذه الكائنات يعتمد على قدرة خلاياها على إفراز كميات قليلة من المواد الهلامية .

أما الإسبيروكيتات *Spirochaetes* فهى بكتيريا وحيدة الخلية حلزونية الشكل ذات جدر مرنة نسبيا . والخلية تتكون من إسطوانة بروتوبلازمية يلتف على جسمها واحد أو أكثر من اللويفات المحورية Axial fibrils والتى تنشأ من أقراص تحت طرفية توجد عند طرفى الإسطوانة البروتوبلازمية . اللويفات المحورية تماثل الأسواط فى تركيبها . الأطراف السائبة لهذه اللويفات المحورية قد تمتد خارج طرف الإسطوانة البروتوبلازمية معطية مظهر الأسواط الطرفية الكاذبة . واللويفات المحورية هذه لا تعتبر أعضاء للحركة فى الاسبيروكيتات . وقد وصفت فى هذه الكائنات ثلاثة طرز من الحركة هى حركة دائرية سريعة على طول محور الخلية ، حركة دودية ، و تحرك الخلية نفسها بطريقة تشبه حركة بريمة .

وهناك حركة كاذبة للخلايا البكتيرية تسمى بالحركة البروانية Brawning movement والتى تحدث لخلايا البكتيريا فى الأوساط السائلة نتيجة تصادم الخلايا بجزيئات السائل .

ويعتقد أن أنواعاً أخرى من البيلى يكون أعضاء للإلتصاق ، فإن سلالات البكتيريا التى تمتلك البيلى تكون أقدر على الإلتصاق بالخلايا الحيوانية والنباتية وكذلك على سطوح البيئات التى تعيش عليها .

ثانيا : التجرثم البكتيرى Bacterial sporulation

التجرثم Sporulation عملية تلجأ إليها بعض أنواع البكتيريا عند التعرض لظروف غير مناسبة أو عندما تكبر الخلية فى العمر وذلك بإنتاج

جراثيم سواء داخل الخلية Endospores أو خـــارج الخليـــة Exospores .
ووظيفة التجرثم هو القدرة على تحمل الظروف البيئية غير المناسبة للنمـــو والإنقسام . والجراثيم الداخلية تتكون بتكوين جدر رقيقة للجرثومة داخل كل خلية ويستعمل موقع وشكل الجرثومة الداخلية فى عملية تقسيم البكتيريا .

و ٢- *Bacillus* و ٣- *Clostridium* و٤- و ٥- و ٦- و٧- و٨- و٩- و ١٠-. *Sporosarcina* أفراد جنس *Bacillus* هوائية توجد بكثرة فى بعض الأجناس البكتيرية ذات الخلايا العصوية المستقيمة التابعة لأجناس *Sporolactobacillus* و *Desulphotomaculum* و *Oscillospora* و *Sporohalobacter* و *Sulfidobacillus* و *Syntrophospora* و *Amphibacillus* و *Clostridium* و *Bacillus* لها القدرة على إنتاج جـــراثيم داخلية . كما أن بعض البكتيريا الكروية مثل جنس *Sporosarcina* يمكنها أيضاً إنتاج هذا النوع من الجراثيم.

فسيولوجيا التجرثم Physiology of sporulation

للجراثيم الداخلية خواص فسيولوجية مميزة مثل مقاومتها للظـــروف البيئة عن الخلايا الخضرية ومقاومتها للحرارة العالية وبعـــض الإشـــعاعات ذات الموجات القصيرة والمواد الكيماوية السامة والجفاف ويمكنها أن تبقـــى ساكنة لمدة طويلة . ويبدو أن التجرثم يبدأ عندما تعانى الخلايا نقصاً غـــذائياً فوجود الجلوكوز كمصدر طاقة بالبيئة يصاحبه دائماً تثبيط لعملية التجـــرثم كما لوحظ أيضاً أنه عندما يكون النيتروجين المتاح محـــدداً تـــزداد فرصـــة التجرثم . كذلك وجد أن نقص الحمض الأمينى الألانين ينبه حدوث التجرثم فى بعض سلالات البكتيريا مثل *Bacillus mycoides* وعلاوة على التغذيـــة فإن التهوية لها تأثير أيضاً فى عملية التجرثم فقد وجد أن نقص الأكســـجين يسبب تجرثم بعض سلالات *B. megaterium* أيضاً هنـــاك بعـــض المـــواد

اللازم توافرها فى البيئة الغذائية حيث تحتاج أنــواع *B. subtilis* لأيونــات المنجنيز والكالسيوم ونقص هذه المواد فى البيئة يسبب التجرثم .

ويعزى سبب مقاومة الجراثيم للحرارة إلى قلة محتواها المائى علاوة على أن كمية الماء القليلة الموجودة تكون مرتبطة بالبروتينات بعكس المــاء فى الخلية حيث يكون حراً . كذلك يعلب وجود ملــح الكالســيوم لحمــض Dipicolinic دوراً رئيسياً فى المقاومة الحرارية . هذا ويعتبر تواجد حمض السستين من الأهمية بمكان لتخليق الغلاف الجرثومى .

وتكون البكتيريا نوعين من الجراثيم نوع يتكون خارج الخلية والآخر يتكون داخل الخلية الخضرية ، وفيما يلى مختصر عن كل منهما :

أولاً : الجراثيم الخارجية Exospores

وتكونها أفراد رتبة Actinomycetales كذلك بعض أنواع بكتيريــا الميثان التى تمتاز بتكوين جراثيم خارجية تعرف بالكونيديات conidia والتى قد تكون مفردة أو فى سلاسل . ولهذا الغرض تتخصــص بعــض هيفــات الميسليوم وتصبح هذه الهيفات هوائية قد تكون متفرعة أو حلزونية ثم بأخــذ بروتوبلازم هذه الهيفات الهوائية فى الإنقسام بحواجز عرضية تبدأ من طرف الهيفا مكونة سلاسل من الخلايا الكروية أو العصوية وعندما تنضــج هــذه الكونيديات يصبح كل واحد منها له القدرة على الإنبات وتكون الميسليوم متى كانت الظروف مناسبة ولذا هو وسيلة للتكاثر والإنتشار أما درجة مقاومتهــا للظروف الغير مناسبة لا تزيد كثيراً عن الميسليوم وذلــك عكــس المقــدرة الفائقة للجراثيم الداخلية على تحمل الظروف غير المناسبة .

ثانياً : الميكروسيست Microcyst

يطلق هذا على طور السكون عندما تتحول الخلية بأجمعها إلى حالة سكون لمقاومة الظروف الضارة فيزداد سمك جدار الخلية وتزيد نسبة المواد

المخزونة . ومقاومة الميكروسست تكون عادة أقل بكثير من مقاومة الجراثيم الداخلية وخاصية تكوين الميكروسست تكون شائعة فى البكتيريا الهلامية ذات الشكل الكروى أو البيضاوى أو العصوى التابعة للـ Myxobacterales .

ثالثا : الميكسوسبور Myxospore

كما أن هناك أفراد من هذه البكتيريا الهلامية تكون نوع آخر من أطوار السكون يسمى Myxospore وهذه الجراثيم تكون مقاومة للظروف غير المناسبة عن الخلايا الخضرية .

رابعاً : الجراثيم الداخلية Endospores

ويلاحظ أنه يوجد أيضاً بعض البكتيريا الكبيرة الحجم نسبياً يمكنها أن تكون جراثيم داخلية مثل التى تعيش فى المحتويات المعوية للحيوانات . فشوهدت أجساماً بيضية كبيرة الحجم تشبه الجراثيم الداخلية فى خلايا خيوط البكتيريا *Oscillospira* التى تعيش فى أجسام أرانب التجارب . والخيوط تتحرك بسرعة بأسواط جسمية . وغالباً تتكون بالخلية الواحدة جرثومتان أو أكثر . كما لوحظ أيضاً فى البكتيريا *Metabacterium polyspora* والتى تعيش فى أمعاء الحيوانات الصغيرة مثل الفئران والأرانب وحيوانات التجارب أنها تكون جراثيم داخلية . ولأن كل خلية منها تحمل بداخلها عدداً من الجراثيم قد تصل إلى ٨ جراثيم .

والخلية المتجرثمة من الأنواع التابعة للجنسين *Clostridium* و*Bacillus* تكون جرثومة واحدة فقط بكل خلية الأمر الذى يجعلنا لا نعتبر عملية التجرثم هذه عملية تكاثرية ولكن يمكن إعتبارها كذلك إذا تكونت بالخلية الواحدة أكثر من جرثومة كما هو الحال فى بعض الأجناس مثل *Metabactrium* .

وتتميز الجراثيم بقدرتها الفائقة على كسر الضوء ومقاومتها للصبغ بصبغات الأنيلين القاعدية والتى تصبغ الخلايا الخضرية بسهولة ولذلك فإن لها طرقاً خاصة لصبغها . وللجراثيم الداخلية خواص فسيولوجية مميزة مثل مقاومتها للظروف البيئية غير الملائمة كمقاومتها للحرارة العالية وللجفاف وللتركيزات المرتفعة نسبياً من المواد الكيماوية السامة وكذلك الإشعاع . ومقاومتها للجفاف يعطيها القدرة على السكون Dormancy لمدة طويلة حيث أنه خلال عملية التجرثم تزيد عملية dehydration process وبالتالى تقل نسبة الماء a_w فى الخلية مما يساعد على تحمله للظروف السيئة . وبعض الجراثيم الداخلية المقاومة للحرارة فيلزم لقتلها حرارة مرتفعة تصل إلى ١٢٠°م (بخار تحت ضغط) لمدة ١٥ – ٢٠ دقيقة . وقليل من الجراثيم تقتل على درجة غليان الماء تحت الضغط الجوى العادى لمدد قصيرة . كما ان منها ما يقتل بالتعرض إلى ٥٨ – ٦٠ °م لمدة ٣٠ دقيقة تماماً كالخلايا الخضرية .

وعموماً فإن الجراثيم يمكن إعتبارها مرحلة ساكنة للخلية الأم . وهى تستطيع أن تعيش لعشرات السنين فى غياب مصدر غذائى خارجى نظراً للإنخفاض الشديد أو لإنعدام نشاطها الأيضى Metabolic activity . وعندما يتوفر للجراثيم وسط غذائى مناسب فإنها تنبت وتكون خلية خضرية عادية قادرة على النمو والإنقسام الخلوى . ومقاومة الجراثيم للحرارة تتيح الفرصة لعزل البكتيريا المتجرثمة بطريقة إنتخابية من المصادر الطبيعية ، وذلك عن طريق بسترة محاليل مائية من المصدر الطبيعى وهذا يقضى على الخلايا الخضرية تاركاً الجراثيم.

تكوين الجراثيم الداخلية Formation of endospores

تحدث عملية تكوين الجراثيم الداخلية على خطوات ويبدو أن الوقت الكلى لتكوين الجراثيم يستغرق حوالى ٨ ساعات ويلاحظ عدم تكرار

كرومو - ى وهى لذلك تختلف عن إنقسام الخلية حيث يتحول DNA إلــى خيط طويل وهذا الخيط يتصـــل بالغشـــاء الخلــوى بواســطة الميزوســوم Mesosome ثم ينفصل حمض DNA إلى كروموسوم فــردى أى خيطــين إحداهما يذهب إلى طرف الخلية . بعد ذلك ينمو الغشاء الخلوى من الخليــة الأم حول الجرثومة المتكشفة والتى تحاط بغشاء مزدوج . تتكــون القشــرة cortex من الميكوببتيدات بين الغشائين ويتم تخليق حمــض Dipicolinic acid ويتم أخذ أيونات الكالسيوم والسستين ثم يتكــون الغــلاف الجرثــومى بطبقاته المختلفة ويبدأ تكوين الإكسوسوريم وتصبح الجراثيم المتكشفة قادرة على كسر الضوء . ثم تزداد طبقات الغلاف الجرثومى سمكاً وتصبح أقــل مقاومة للحرارة وذات قدرة عالية على كسر الضوء ومقاومة للصــبغ وقــد تتحلل بقايا الخلية الخضرية وتتحرر الجرثومة .

التركيب الداخلى للجرثومة Internal structure of spore

بفحص قطاعات رقيقة للجراثيم البكتيرية بالميكروسكوب الإلكترونى يظهر فيها التراكيب الآتية من الداخل الى الخارج :

١- الخلية الجرثومية Germ cell وهى عبارة عن سيتوبلازم الجرثومة وبه غالباً كروموسوم واحد وبعض الريبوسومات محاطاً بغشاء داخلى Inner membrane .

٢- جـــدار الجرثومـــة Spore wall ويتركـــب مـــن الميـــورين (N-acetyglucoseamine + N-acetylmuramic acid) ، وهذا الجــدار سيصبح الجار الخلوى للخلية الخضرية الجديدة عند إنبات الجرثومة .

٣- القشرة Cortex وتكون نصف حجــم الجرثومـــة وتحتــوى علــى داى بيكولينات الكالسيوم Calsium dipicolinate مختلطة بالميورين . وهــذه الطبقة هى المسئولة عن المقاومة الحرارية وذلك لإحتوائها على تركيــز

عالى من ملح الكالسيوم لحمض Dipicolinic بنسبة تصل إلـــى ١٥ % من الوزن الجاف للجرثومة .

٤- الغشاء الخارجى Outer membrane وهو غشاء يحيط بالقشرة .

٥- الغلاف الجرثومى Spore coat وهو يعطي للجرثومة شكلها ويتكون مـــن طبقتين أو ثلاث طبقات ، وهو يحمى الجرثومة من فعل الإنزيمات المحللة Hydrolytic enzymes . ويتركب الغلاف بطبقاته من عديـــدات الببتيـــد polypeptides أو من البروتين المقاوم لفعل الإنزيمات المحللة للبـــروتين Proteolytic enzymes وكذلك المقاوم لفعل إنزيم الليزوزيم Lysozyme. ويلزم وجود السستين Cystine فى البيئة لتخليق الغلاف الجرثومى .

٦- الإكسوسبوريم Exosporium هو طبقة أو تركيب خارجى يظهـــر فـــى شكل غشاء رقيق قد يكون ملاصقاً أو غير ملاصق للجرثومة وهو بذلك تركيب خارجى سائب غير منفذ لكثير من المركبات . ويحتـــوى علـــى بروتين دهنى Lipoprotein وكذلك سكريات أمينية Aminosaccharides

والتركيب الذى يمنح الجرثومة القدرة على مقاومة الحرارة هو طبقـــة القشرة لإحتوائها على تركيز عالى من ملح الكالسيوم لحمض الداى بيكولينيك وقد تتراوح نسبة هذا الملح بالقشرة مـــن ٣ – ١٥ % مـــن الـــوزن الجـــاف للجرثومة . ويلاحظ أن كل الجراثيم البكتيرية تحتوى على كميات من حمض الداى بيكولينيك فى حين أن هذه المادة لا توجد فى الخلايا الخضرية وكـــذلك توجد كمية كبيرة من الكالسيوم فى الجراثيم ، ويبدو أن الكالسيوم يحدث خلال المراحل المتقدمة من تكشف الجرثومة . ويمكن أن تتكون الجراثيم الداخليـــة عند نمو الخلايا فى بيئة غنية بالمواد الغذائية وتصل إلى نهاية منحنى نموهـــا (مرحلة النمو النشط) ومن العوامل التى تؤثر على التجـــرثم إرتفـــاع درجـــة الحرارة ، الكبر فى العمر بالنسبة للخلية ، نقص الغذاء المتوفر فى البيئة .

وتكون الجراثيم الناضجة Mature spores عادة كروية أو بيضية الشكل . ويلاحظ أن موضع وجود الجرثومة بالنسبة للخلية الخضرية التي إشتقت منها يختلف في البكتيريا المتجرثمة ، فقد تكون في الطرف Terminal أو في الوسط Central أو تحت الطرف Subterminal . كما أن قطر الجرثومة قد يكون أكبر أو أصغر من قطر الخلية الخضرية ، ويختلف سمك جدر الجرثومة أيضاً بإختلاف النوع . ويعتبر ما تقدم من الصفات الهامة التي تستعمل في تقسيم أنواع جنس *Bacillus* .

الأجسام المصاحبة للجراثيم Parasporal bodies

قد يصاحب عملية التجرثم داخل الكيس الجرثومي Sporangium تخليق أجسام بلورية يطلق عليها الجسم المصاحب للجراثيم . ففي حالة الخلايا المتجرثمة من البكتيريا *Bacillus thuringiensis* تحتوى على بلورة بروتينية ثمانية الشكل Octahedral shape . ويلاحظ أن كل خلية متجرثمة تحتوى على جسم واحد فقط من هذه الأجسام . وهذه الأجسام بعكس الجراثيم الداخلية تصبغ بسهولة ، وهي لا تحاط بأي غشاء أو غطاء . وقد وجد أن كميات ضئيلة من هذه المكونات البلورية تعتبر سامة جداً لكثير من الحشرات وتسبب شللاً لها وتستعمل هذه البلورات حاليا وجراثيم البكتيريا *B. thuringiensis* في المقاومة الحيوية Biological contol لبعض أنواع الحشرات .

إنبات الجراثيم Spore germination

أثناء الإنبات يحدث فقد لقدرة الجراثيم على كسر الضوء وزيادة القابلية للصبغ بالطرق البسيطة وفقد المقاومة للحرارة وكذلك نقص في الوزن الجاف . ويعزى ذلك النقص في الوزن الجاف إلى إفراز مواد كيماوية معينة من الجراثيم وهي أيونات الكالسيوم وحمض الداى بيكولينيك والميكوببتيد . ورغم نقص الوزن الجاف فإنه يحدث زيادة في حجم

الجرثومة ثم يتبع ذلك إنشقاق غلاف الجرثومة إما قطرياً على طول المحيط الوسطى أو طرفياً بإنشقاق الأغلفة من أحد أطراف الخلية . ومن المعروف أن الجراثيم تحتوى على كمية زائدة من نشاط الإنزيم ألانين راسيماز Alanine racemase ومن هنا يتضح دور هذا الإنزيم في تنظيم كمية الألانين بصورتيه D و L والتي تتحكم في عملية إنبات الجراثيم . وأن نسبة هذه المشابهات إلى بعضها تساعد في الإحتفاظ بحالة السكون وأن أى خلل في هذه النسبة يؤدى إلى وقف عملية الإنبات ، حيث أن صور L-alanine تشجع الإنبات وأن صور D-alanine تعطل الإنبات . ثم بعد ذلك يحدث زيادة في حجم الجرثومة ثم ينشق الغلاف الجرثومي ويبدأ الطور الخضرى . تواصل الخلية الخضرية الناتجة إنقسامها عندما تكون الظروف مناسبة . ويبدأ الإنبات بتكوين خيط رفيع بجدار رقيق ويتكون حمض RNA حتى في غياب المواد الغذائية إعتماداً على المخزون من الحمض في الخلية ويبدأ تخليق البيورينات والبريميدينات في خلال ١٥ – ٢٠ دقيقة الأولى من بداية الإنبات . وقد وجد أن بعض المعاملات الفيزيائية تنبه عملية إنبات الجراثيم مثل التسخين على درجة ٦٠°م أو الرج مع كريات زجاج أو إضافة بعض المواد المنشطة حيث وجد أن جراثيم جنس *Clostridium* يتطلب وجود كمية من غاز CO_2 في الجو المحيط به وجنس *Bacillus* يتطلب وجود مستخلص خميرة بالبيئة وكذلك وجود الحمض الأميني الألانين يشجع إنبات جراثيم *B. cereus* . وتعتبر مقاومة الجراثيم الداخلية أكبر من الخارجية في بعض الأنواع في مقاومة الحرارة العالية بزيادة نسبة ملح الكالسيوم لحمض الداى بيكولينيك وكذلك مقاومة الجراثيم للإشعاع .

الفصل السابع :
تغذية ونمو الخلية البكتيرية

تغذية ونمو الخلية البكتيرية

Nutrition and growth of bacterial cell

أولاً : تغذية البكتيريا Nutrition of bacteria

تتشابه البكتيريا مع غيرها من الكائنات الحية في إحتياجاتها من الغـذاء إذ لا يمكنها القيام بوظائفها الحيوية بدونه حيث يستخدم الغـذاء فـي بنـاء الخلايـا والحصول على الطاقة اللازمة لمختلف الوظائف الحيوية . تحتوى معظم الخلايـا الحية نباتية كانت أو حيوانية على نسبة تتراوح بين ٨٠-٩٠٪ من وزنها الرطب في صورة ماء ، كما يشمل بروتوبلازمها على مركبات تحتوى علـى الكربـون والإيدروجين والأكسـجين والنيتـروجين والفوسـفور والكبريـت والبوتاسـيوم والماغنسيوم والكالسيوم والحديد علاوة على بعض العناصر الأخرى التى توجـد بكميات ضئيلة جداً وهذه العناصر هى المنجنيز والكوبلت والنحاس والموليبـدينوم والزنك . وتحصل الخلية البكتيرية على إحتياجاتها من الأمـلاح المعدنيـة علـى إختلافها ، وكذلك على مصادر الطاقة سواء كانت عضوية أو غيـر عضـوية ، وكذلك مصادر البناء من البيئة التى تعيش فيها أو عليها .

ويرتبط نمو الكائنات الحية الدقيقة بوجود الماء فلا نمو الفطريات على سبيل المثال إلا فى وجود ١٢% على الأقل ماء ،أما البكتيريا فلا تنمو علـى المواد التى يقل محتواها المائى عن ٢٠% وترجع أهمية الماء للخلية البكتيرية إلى أنه الوسط الذى يحمل كل العناصر الغذائية للخلية إلى داخلها ، كما يحمل المواد الزائدة عن حاجتها إلى الخارج ، كما يشترك الماء فـى العديـد مـن التفاعلات الكيماوية التى تجرى داخل الخلية والضرورية لحفظ حياتها . والماء ضرورى لحفظ الطبيعة الغروية لمكونات الخلية البكتيرية وهى خاصية هامـة

لحفظ حياة الكائن الحى ، كما أن الماء يمتص الحرارة المتحررة من مختلف التفاعلات التى تجرى داخل الخلية حيث أنه موصل جيد للحرارة .

وتحصل الخلية البكتيرية على الغذاء شأنها فى ذلك شأن باقى الخلايا الحية لتأدية وظيفتين أساسيتين هما إنتاج الطاقة وبناء البروتوبلازم. ويشترط فى المادة الغذائية أن تكون قادرة على الدخول إلى الخلية وأن يكون الجهاز الخلوى قادراً على إستعمالها أى يحتوى على النظم الإنزيمية لتحويلها إما إلى طاقة أو إلى بروتوبلازم .

ويلاحظ أن النبات يحصل على الغذاء اللازم له من مواد بسيطة حيث يبنى منها جسمه مستعيناً فى ذلك بالطاقة التى يستمدها من عملية التمثيل الضوئى Photosynthesis . أما الحيوان فيستخدم مواد معقدة فى بناء جسمه للحصول على الطاقة . أما بالنسبة للبكتيريا فمنها ما يحصل على الطاقة من عملية التمثيل الضوئى أو من أكسدة المواد الكيماوية البسيطة وتحصل على العناصر الغذائية من مواد بسيطة تتشابه فى ذلك مع النبات . ولكن أغلبها يحصل على المواد الغذائية اللازمة لبناء أجسامها والحصول على الطاقة من مواد معقدة مثل الحيوان .

والبكتيريا تحصل على المواد الغذائية بالإنتشار الغشائى لذلك فلابد من أن يكون هذه المواد فى صورة ذائبة حتى تستطيع أن تمر خلال الغشاء السيتوبلازمى . لذلك فإنه فى حالة البكتيريا التى تتغذى على مواد عضوية معقدة مثل السليولوز أو النشا أو الدهون أو البروتين ، فلابد لها أن تفرز إنزيمات خارجية Extracellular أى خارج الخلية فى الوسط الخارجى ليستطيع تحويلها إلى الحالة الذائبة . ولا تختلف الإحتياجات الغذائية للخلايا البكتيرية عن الكائنات الحية الراقية وأهم الإحتياجات هى الأكسجين والإيدروجين والكربون والأزوت والعناصر المعدنية .

أ- الأكسجين Oxygen

وقد سبق تقسيم البكتيريا بالنسبة لإحتياجاتها للأكسجين إلى أربعة أقسام هى : البكتيريا الهوائية إجباراً والبكتيريا اللاهوائية إجباراً والبكتيريا الإختيارية والبكتيريا المحبة للأكسجين بكمية ضئيلة وتحصل البكتيريا على الأكسجين إما من الهواء أو من مواد مرتبطة به .

ب- الإيدروجين Hygrogen

وتحصل البكتيريا عليه من الماء أو من المواد غير العضوية أو من المواد العضوية .

ج- الكربون والطاقة Carbon and Energy

تختلف البكتيريا بالنسبة لمصدر الكربون المستعمل لبناء أجسامها من كربوهيدات أو من مواد عضوية . وتحصل البكتيريا على الكربون إما من CO_2 الجوى أو من مواد معدنية أو من مواد عضوية .

بالرغم من أن معظم البكتيريا تحصل على الطاقة عن طريق تحويلها لبعض المواد العضوية لوغير العضوية من صورة إلى أخرى بطريقة ينطوى عليها إنتاج طاقة ، فإن البعض الآخر يمكنه إستعمال الطاقة الضوئية لإختزال ثانى أكسيد الكربون الجوى وتحويله إلى مواد كربوهيداتية تدخل فى بناء البروتوبلازم الخلوى . ومثل هذه البكتيريا تحتوى على أصباغ تعرف بالكلوروفيل البكتيري وقد تحتوى البكتيريا الأخرى التى تحصل على طاقتها عن طريق تفاعلات كيماوية على بعض الإصباغ إلا أن هذه الأصباغ ليس لها علاقة بالضوء . وعلى ذلك حتى نتمكن من وصف طرز التغذية آخذين فى الإعتبار كل من مصدر الهيدروجين ومصدر الكربون والطاقة يمكن وضع البكتيريا فى مجموعتين رئيسيتين هما :

أولاً : البكتيريا الممثلة للضوء Phototrophic bacteria

١- Photoautotrophic bacteria

وهذه البكتيريا ذاتية التغذية التي تعتمد على الضوء كمصدر للطاقـــة وتستعمل CO_2 كمصدر رئيسى للكربون أو تستطيع إستخدام CO_2 كمصدر وحيد للكربون حيث تقوم بتثبيته عن طريق دورة ريبولوز ثنائي الفوســفات مثل بكتيريا الكبريت الخضــراء Green sulfur bacteria التابعـــة لعائلـــة Chlorobiaceae وبكتريا الكبريت القرمزية Purple sulfur bacteria التابعة لعائلة Chromatiaceae .

٢- Photoheterotrophic bacter:a

وهذه البكتيريا غير ذاتية التغذية والتي تعتمد على الضوء كمصـــدر لطاقة وتستعمل مركبات كربون عضوية كمصدر كربــوني رئيســي مثــل البكتيريا Purple nonosulfur bacteria التابعة لعائلة Rhodospirillaceae وتحصل هذه البكتيريا على الكربون من ثاني أكسيد الكربون الجوى كمصدر وحيد للكربون وتسمى أيضاً Photosynthetic bacteria وهى بكتيريا قادرة على القيام بعملية التمثيل الضوئى وأن تحويل CO_2 إلى مكونـــات خلويـــة عضوية يعتبر عملية إختزال . وتشابه النباتات في هذه الخاصـــية ، وهـــذه البكتيريا تحتوى على كلوروفيل ولكنه موزع بإنتظام في السيتوبلازم ولـــيس في بلاستيدات خضراء . كما توجد صبغات أخرى خلاف الكلوروفيل كمـــا في بكتيريا الكبريت الإرجوانية Purple sulfur bacteria وهذه الميكروبات لاهوائية Anaerobic وتقوم هذه البكتيريا بالتفاعل الأتى :



$$6CO_2 + 12H_2S \xrightarrow[\text{Bacterial Chlorophyll}]{\text{Light}} C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12S$$

وتجدر الإشارة بأن التمثيل الضوئى فى هذه الحالة يختلف عن التمثيل الضوئى Photosynthesis فى النبات فى أن البكتيريا الممثلة للضوء لا هوائية بينما النبات هوائى ، والتمثيل الضوئى فى البكتريا لا ينتج عنه أكسجين بعكس الحال فى النبات ، هذا علاوة على أن الكلوروفيل فى البكتيريا موزع فى السيتوبلازم بينما فى النبات يوجد بداخل البلاستيدات الخضراء .

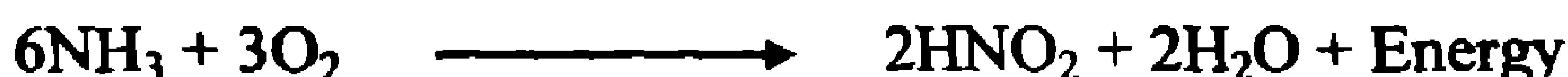
وتعتبر هذه البكتيريا (ذاتية التغذية) التى تتطلب مصدراً غير عضوى للطاقة أو قد تستعمل الطاقة الضوئية فإن تصمها البنائى يكون أكثر تعقيداً إذا تكون من المواد البسيطة هذه مواد معقدة ، وعلى العكس فالبكتيريا غير ذاتية التغذية تعتبر أبسط فى قدرتها التخليقية حيث تحصل على مصدر عضوى معقد للطاقة . فكلما كانت الإحتياجات الغذائية للكائن بسيطة كلما تعقدت قدرات هذا الكائن التخليقية للمواد البروتينية وغيرها من الإحتياجات مثل عوامل النمو وغيرها .

ثانياً : البكتيريا الممثلة للمواد الكيماوية Chemotrophic bacteria

وهى البكتيريا التى تحصل على الطاقة من خلال عمليات الأكسدة والإختزال وتسمى هذه المجموعة أيضاً Chemosynthetic bacteria والبكتيريا التى تستعمل ثانى أكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون تعرف بالبكتيريا ذاتية التغذية Autotrophs والبكتيريا التى لا تقدر على ذلك بل تتطلب مصدراً عضوياً من الكربون تعرف بالبكتيريا غير ذاتية التغذية Heterotophs . والبكتيريا ذاتية التغذية يمكنها أن تنمو وتتكاثر على بيئات غير عضوية كلية تتركب من أملاح معدنية فى وجود CO_2 . وعلى أساس هذين النظامين يمكن أن تقسم البكتيريا إلى أربع طرز غذائية كالآتى :

١- المواد الكيماوية المعدنية **Chemolithotrophic bacteria**

وهى البكتيريا التى تحصل على الهيـدروجين مـن المـواد غيـر العضوية وتسمى أيضـا Chemoautotrophic bacteria وهـذه البكتيريـا تحصل على الكربون اللازم لها من CO_2 الجوى وتحصل على الطاقة مـن أكسدة المواد الكيماوية المعدنية البسيطة القابلة للأكسدة ومن أمثلتها بكتيريـا النيتروزوموناس *Nitrosomonas* وتحصل هذه البكتيريا على الطاقة اللازمة لها بأكسدة الأمونيا إلى نيتريت حيث تستخدم الأمونيا كمعطى للهيـدروجين كما هو واضح من التفاعل التالى :



$$6NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + Energy$$

وبكتيريا النيتروباكتر *Nitrobacter* التى تؤكسد النيتريت إلى نترات كمصدر للطاقة كما هو مبين بالتفاعل الأتى :



$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + Energy$$

والميكروبان السابقان هما ضمن بكتيريا التأزت وهى مهمة جداً فى التربة الزراعية حيث تؤكسد أملاح الأمونيوم الناتجـة مـن تحلـل المـواد العضوية النيتروجينية إلى نترات وبذلك تكون فى أحسن صـورة ملائمـة لإستفادة النبات . ومن البكتيريا التابعة لهذا القسم أيضاً بكتيريا الكبريت الغير ملونة التابعة لجنس *Thiobacillus* والتى تحصل على طاقتها من التفاعـل الأتى :



$$2S + 3O_2 + 2H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 + Energy$$

٢- المواد الكيماوية العضوية **Chemoorganotrophic bacteria**

وهى البكتيريا التى تحصل على الهيدرويجن اللازم لها من مركبـات ومواد عضوية وهى بكتيريا معقدة التغذية حيث تحصل على الكربون والطاقة من مواد عضوية معقدة وهى تمثل أغلب أنواع البكتيريا الموجودة بالطبيعـة وتسمى أيضاً Chemoheterotrophic bacteria . وتحصل هذه الميكروبـات

على الطاقة اللازمة لها من أكسدة المواد العضوية سواء تحت الظروف الهوائية أو اللاهوائية حسب نوع الميكروب وبذلك تتفرد الطاقة اللازمة لها . والمواد العضوية الكربونية التى تستخدم بواسطة هذه الميكروبات عديدة كالسكريات البسيطة والمعقدة والكحولات والأحماض العضوية وغيرها .

ويمكننا هنا أن نتساءل عن أى من المجموعتين نشأ من الآخر أثناء نشوءه وتطوره . حيث يرى البعض أن البكتيريا جميعها نشأت وتطورت من أجداد ذاتية التغذية كانت تستعمل المصادر الغذائية غير العضوية وتستعمل الطاقة المتكونة فى تحويل CO_2 إلى مركبات عضوية بروتوبلازمية وأن بعض البكتيريا قد فقدت هذه الخصائص واحدة تلو الأخرى على مر الزمن وان التدرج فى الإحتياجات الغذائية التى تظهره البكتيريا ما هو إلا نتيجة هذا التطور بعيداً عن ذاتية التغذية Autotrophism متجهاً نحو الإعتماد فى الحصول على الغذاء من كائنات حية أخرى كما هو الحال فى التطفل وهو آخر مراحل التطور .

د- النيتروجين Nitrogen

تختلف البكتيريا بالنسبة لمصدر النيتروجين اللازم لبناء أجسامها فإن البكتيريا الممثلة للضوء والممثلة للمواد المعدنية مثلاً تحصل على النيتروجين اللازم لها من مواد معدنية كالأمونيا والنترات . و تحتاج إلى نيتروجين عضوى ومن مصادر النيتروجين البسيطة المذكورة تستطيع هذه الميكروبات بناء الأحماض الأمينية والأحماض النووية والبروتينات والإنزيمات والقواعد النيتروجينية والمركبات الحيوية المختلفة اللازمة لها .

أما البكتيريا الممثلة للمواد العضوية فهى تختلف فيما بينها من حيث إحتياجاتها من مصادر النيتروجين فبعضها يمكنها الحصول على إحتياجاتها النيتروجينية من الأمونيا والنترات أيضاً وهناك أنواع أخرى يمكنها الحصول على النيتروجين اللازم لها من النيتروجين الجوى مباشرة كالبكتيريا المثبتة للنيتروجين

بينما البعض الآخر لابد له من وجود مصادر نيتروجين معقدة محتوية على أحماض أمينية وببتيدات لكى تستطيع النمو كمعظم الميكروبات الممرضة .

هـ- العناصر المعدنية Minerals

تتشابه العناصر المعدنية الكبرى Major والصغرى Miner التى تحتاج إليها البكتيريا كثيراً مع تلك التى تحتاجها النباتات الراقية ، وتحتاج الكائنات الحية الدقيقة بصفة عامة لعدد قليل فقط من عناصر الجدول الدورى بتركيزات عالية وقد تصل نسبتها إلى $١٠^{-٤}$ مول ، ويوضح الجدول التالى العشرة عناصر الغذائية الكبرى وبعض وظائفهم . فالكربون والأكسجين والهيدروجين والأزوت هى المكونات الأساسية للمادة العضوية الموجودة فى الخلية ويدخل الكبريت فى تركيب بعض الأحماض الأمينية مثل السيستين والمثيونين وبعض مرافقات الإنزيمات أما الفوسفور فيدخل فى تركيب الأحماض النووية والفوسفولبيدات وأحماض التايكويك Ticoich acids وكذا فى تركيب بعض النيوكليتيدات ومرافقات الإنزيمات . أما الأربعة عناصر الكبرى الباقية فهى عبارة عن أيونات معدنية تدخل كعوامل مساعدة هامة للنشاط الإنزيمى أو تدخل فى تركيب بعض المركبات الحيوية الهامة فى الخلية، فالماغنسيوم يدخل فى تركيب الكلوفيل البكتيرى ويساعد على ثبات تركيب البروتينات الدهنية فى الجدار الخلوى . ويدخل الكالسيوم فى تركيب بعض الإنزيمات الخارجية مثل إنزيمات Amylase و Protease كما يعد معقد الكالسيوم مع حمض الدييكولين مكوناً هاماً للجراثيم الداخلية .

ويعد البوتاسيوم هو الكاتيون الأساسى فى الخلية الذى يعمل على تنظيم الإسموزية وتبادل العناصر كما يدخل كعامل مساعد لبعض النظم الإنزيمية فى الخلية . وتدخل أيونات الحديدوز والحديديك فى تركيب نظم السيتوكرومات الهامة لعمليات إ الطاقة ، كما يدخلا فى تركيب بروتينات

الحديد والكبريت مثل الفيريدوكسين Ferriodoxin وكذا بعض الإنزيمات مثل إنزيم الكاتاليز Catalase .

و- الفيتامينات وعوامل النمو Vitamins and growth factors

تختلف الميكروبات كثيراً فى إحتياجاتها للفيتامينات وعناصر النمو فبعض الميكروبات قادرة على تكوين إحتياجاتها من هذه المواد بنفسها مثل ميكروب E. coli التابعة لعائلة Enterobactriaceae ولذلك لا يلزم وجودها فى البيئة الغذائية بينما البعض الآخر مثل بكتيريا حمض اللاكتيك غير قادرة على تكوين كل أو بعض هذه الفيتامينات والمواد الضرورية للنمو . وفى هذه الحالة فإن غيابها أو نقصها من البيئة قد يؤدى إلى منع أو تقليل معدل النمو لهذه الميكروبات .

وأكثر الفيتامينات التى تحتاجها البكتيريا هى الثيامين Thiamine (B_1) والبيوتين Biotin (Vitamine H) وحامض البنتوثينك Pantothenic acid والريبوفلافين Riboflavin (B_2) والبيريدوكسين Pyridoxin (B_6) وحامض النيكوتيك Nicotinic acid وحامض البارا أمينوبنزويك P-aminobenzoic acid وإن كان هناك مركبات أخرى تحتاجها بعض الميكروبات ولكن هذا على سبيل المثال لا الحصر . هذا وتعمل الفيتامينات عامة كمرافقات مثل الريبوفلافين وحمض النيكوتينيك التى تعمل كمرافقات إنزيمية لإنزيمات نقل الإيدروجين . والبيرودوكسال فوسفات يعمل مرافقاً لإنزيمات تخليق الأحماض الأمينية . كذلك حمض الفوليك Folic acid يعمل مرافقاً لإنزيمات بناء البيورينات والبريميدينات. والبكتيريا التى تحتاج إلى إضافة أحد هذه الفيتامينات تكون قد فقدت القدرة على تخليقها طبيعياً لذلك يجب إضافته فى البيئة . وتتناسب كمية النمو الناتج مع تركيز الفيتامين الناقص تناسباً طردياً بصورة واضحة . وقد أوحى ذلك إلى إيجاد طريقة لتقدير تركيز بعض الفيتامينات فى المواد الغذائية

باستعمال البكتيريا المحتاجة إلى إضافة هذه الفيتامينات ويعـرف هـذا التقـدير بالتقدير الحيوى للفيتامينات . ويضاف مستخلص الخميرة عادة للوسط الغـذائى ليسد حاجة الميكروب من هذه الفيتامينات .

وعلاوة على العشرة عناصر السابقة (العناصر الغذائية الكبرى) فإن الكائنات الحية الدقيقة تحتاج إلى عدد آخر من العناصر ولكن بكميات قليلـة جداً ولذا فتسمى بالعناصر الغذائية الصـغرى Trace and small elements وهي الزنك والمنجنيز والصوديوم والكلور والموليبدنيوم والكوبلت والنحاس والنيكل والفاناديوم والبورون . وتشترك هذه العناصر فى العلميات الحيويـة في الخلية البكتيرية إما كمنشطات لبعض الإنزيمات أو بدخولها فى تركيـب بعض المرافقات الإنزيمية أو فى تركيب البروتين الإنزيمى .

وتوجد معظم العناصر الغذائية سواء منها الكبرى أو الصـغرى فـى الطبيعة على صورة أملاح تؤخذ بواسطة الخلية على صورة أيونـات . أمـا بالنسبة لعناصر الكربون والأكسجين والهيدروجين والأزوت والكبريت فإنهـا تؤخذ بواسطة خلايا الكائنات الحية الدقيقة علـى صـورة مركبـات متعـددة ومتنوعة . فخلية الكائن الحى الدقيق تأخذ الكبريت عادة على صورة كبريتات وتختزله بداخلها إلى مستوى الكبريتيد حيث يدخل على هـذه الصـورة فـى عمليات البناء الحيوي . غير أن بعض أنواع البكتيريا تعتمـد علـى وجـود المركبات البروتينية المختزلة فبعض أنواع بكتيريا الميثان لا تستطيع النمو إلا فى وجود كبريتور الهيدروجين كمصدر للكبريت ، كمـا أن أنـواع جـنس *Thiobacillus* وبعض أنواع البكتيريا الممثلة للضوء تتطلب وجود الكبريتيـد أو الكبريت أو الثيوكبريتات لكى تستطيع النمو . وتحتاج الخلية لكميات كبيرة من الأزوت إذ انه يكون حوالى ١٠-١٥% من الوزن الجاف للخلية البكتيرية. ويوجد فى الطبيعة فى صورة آزوت غازى أو أمونيا أو نيتريت أو فى صورة

مركبات عضوية أزوتية . وصورة الأزوت المفضلة بالنسبة لكل الكائنات الحية الدقيقة تقريباً هى الأمونيا وتعمل النترات كمصدر للأزوت بالنسبة لكثير من الكائنات الحية الدقيقة ، وتختزل النترات فى داخل الخلية حتى مستوى الأمونيا قبل أن تدخل فى بناء المركبات العضوية فى الخلية .

ولبعض أنواع البكتيريا القدرة على الإستفادة من الأزوت الغازية إذ تقوم بتثبيته وإختزاله بداخلها إلى مستوى الأمونيا . وخاصة تثبيت أزوت الهواء الجوى هى صفة تقتصر فقط على الكائنات ذوات النواة الأولية Procaryotes والتى منها البكتيريا والطحالب الخضراء المزرقة ولم يثبت وجود هذه الخاصية حتى الآن فى أى من الكائنات ذوات النواة الحقيقية Eucaryotes .

كما تشكل المواد العضوية الأزويتة مصدرا الأزوت لكثير من أنواع البكتيريا وعادة ما تحلل البكتيريا هذه المواد إلى أمونيا قبل أن تستخدمها فى عمليات البناء الحيوى . ويمكن لخلايا البكتيريا أن تأخذ كل من الكربون والأيدروجين والأكسجين فى صورهم العضوية وأيضاً الغير عضوية . ومن الصور الغير عضوية CO_2 ، H_2 ، H_2S ، NH_3 ، H_2O ، NO_3 ، SO_4 أما الصور العضوية لهذه العناصر والتى هى فى نفس الوقت نواتج طبيعية تكونت بفعل كائنات حية أخرى مثل النبتات و الحيوانات فلا تكاد تتجمع وتتراكم على سطح الأرض ويرجع ذلك بالدرجة الأولى لنشاط الكائنات الحية الدقيقة فى تحليل المركبات العضوية . إذ أنه فى حقيقة الأمر ى تكاد توجد مادة عضوية متكونة طبيعياً لا يمكن لميكروب أو آخر مهاجمتها والتغذية عليها وتحليلها .

ولا تكفى مجرد وجود العناصر الغذائية اللازمة فى صورة صالحة لكى تنمو البكتيريا إذ أنها تحتاج لشروط إضافية لكى يتم النمو . ومن هذه

الشروط ضرورة توافر درجة حرارة مناسبة وأن يكون التركيز الكلى للمواد ى البيئة ودرجة حموضتها ونسبة الإيونات إلى بعضها البعض مناسبة .

كما أن هناك البكتيريا ذات الإحتياجات الخاصة التى تحتاج علاوة على الشرط السابقة لمركبات خاصة ولا تستطيع بناءها أو تمثيلها بنفسها ويجب لذلك توافرها فى البيئة لكى يتم النمو ويطلق على هذه المواد اسم عوامل النمو Growth factors وهذه المواد قد تكون أحماض أمينية أو فيتامينات تعمل كمرافقات إنزيمية Co-enzyme أو تدخل فى تركيب هذه المرافقات .

ثانيا : النمو البكتيري Bacterial growth

تعريف النمو Definition of growth

يمكن تعريف النمو فى أى نظام حيوى بأنه الزيادة المنتظمة فى الكتلة الخلوية من المكونات الكيماوية للكائن . ويلاحظ أن الزيادة المنتظمة فى الكتلة الكلية لا تعنى بالضرورة النمو وذلك لأن هذه الزيادة قد تنشأ من بناء وتراكم مواد مخزنة مثل الجليكوجين ولا يصاحب ذلك بناء مواد حيوية مثل البروتين أو الأحماض النووية . وكذلك نجد أن النمو يتم أيضا طبيعيا نتيجة للزيادة العددية للخلايا وللتكاثر الخلوى Cellular multiplication . ويلاحظ أنه فى حالة الكائن عديد الخلايا فإن التكاثر الخلوى يؤدى إلى الزيادة فى حجم الكائن، أما فى حالة الكائنات وحيدة الخلية فإنها تؤدى إلى زيادة فى عدد الأفراد وبذلك يكون النمو فى البكتيريا بصفة خاصة زيادة فى تعداد الخلايا .

وتتكاثر البكتيريا عادة بالإنقسام الثنائى فيحدث أولا تكرار للكروموسوم البكتيرى Chromosomal replication . وكما ذكرنا من قبل فإنه قد يمثل الكروموسوم الدائرى جزئ مفرد من DNA ، وهذا الجزئ يمكنه أن يكرر نفسه بنفس الطرق الإزدواجية للجزيئات غير الدائرية . وبعد إنفصال الكروموسومين المتماثلين يبدأ الغشاء السيتوبلازمى فى النمو إلى مركز الخلية

مكونا حاجزا عرضيا Transverse septum ، ثم ينمو الجدار الخلوى على كلا جانبى الخلية فى النمو للداخل إلى مركز الخلية. ويلاحظ أن نقطة النمو غالباً ما تكون مصاحبة للـــMesosomes وتترسب المواد التى تكون الجدار الخلوى بين غشائي الحاجز Membranes of the septum وفى النهاية ينشق هذا الحـــاجز العرضى لتتكون خليتان .

قياس النمو الميكروبى Measurement of microbial growth

لتتبع النمو الميكروبى فإنه من الضرورى عمل مقاييس لتقدير كميته، وفى حالة مجاميع من كائن وحيد الخلية فإن النمو يمكن قياسه إما بتقدير الكتلة الخلوية Cell mass أو عدد الخلايا Cell number . وفى كلتا الطريقتين يجب أن تنسب إلى حجم معين من البيئة الغذائية الذى نمى عليها الميكـــروب قيـــد الدراسة بجانب ظروف النمو من حرارة ، pH .

أولاً : الطرق المباشرة Direct methods

١ - تقدير الكتلة الخلوية Determination of biomass

وجد أن الطريقة الوحيدة المباشرة لقياس cell mass هى تقدير الوزن الجاف للمادة الخلوية فى حجم معين من المزرعة .

٢ - تقدير العدد الخلوى Determination of cellular number

يمكن تقدير عدد الخلايا فى معلق بكتيرى ميكروسكوبيا عن طريق عد الخلايا الفردية بمساعدة شرائح خاصـــة تســـمى غـــرف العـــد Counting chambers وهذه الطريقة المباشرة فـــى العـــد تســـمى Total cell count . ويلاحظ أنها تقدر العدد الكلى للخلايا البكتيرية الحية أو غير الحيـــة ويمكـــن تقدير عدد الخلايا بطريقة الإطباق Plate count أو الـــViable count حيـــث أن الخلايا الحية الفردية تعطى خلال نموها مستعمرات فردية وذلك عن طريق نشرها على أو فى بيئة أجار مغذى وذلك بتحضير تخفيفـــات مناســـبة مـــن البكتيريا وإستعمالها لتلقيح البيئة فإنه يمكن تحديد عدد الخلايا الحية عن طريق

عدد المستعمرات التى تتكشف بعد التحضين ثم ضرب عدد المستعمرات فى معامل التخفيف . وهذا التقدير يعطى صورة عن عدد الخلايا القادرة على النمو على البيئة الغذائية المستعملة .

ثانياً : الطرق الغير مباشرة Indirect methods

١- تقدير النشاط الإنزيمى Determination of enzymatic activity

وتوجد طريقة أخرى غير مباشرة لتقدير الكتلة الخلوية وهو تقدير نشاط إنزيم معين والتى تنسب إلى الوزن الجاف .

٢- تقدير الكربون والنيتروجين المستهلك

Determination of Carbon and Nitrogen consumed

٣- تقدير النيتروجين الخلوى Determination of Cellular Nitrogen

وقد تقدر أيضاً بطريقة غير مباشرة عن طريق تقدير بعض المكونات للمادة الخلوية مثل المحتوى النيتروجينى .

٤- تقدير الأحماض النووية الكلية Determination of Total nucleic acids counts

٥- تقدير O_2 المستهلك Determination of Consumed Oxygen

أو الناتج النهائى لعملية أيضية (P) Product مثل تقدير CO_2 الناتج من التنفس .

٦- تقدير ناتج الأيض الحيوى Determination of Metabolite product, CO_2

أو التخمر وأن معدل إنتاج حمض ناتج عن تخمير سكر قد يستعمل لتتبع نمو ميكروبى مثل بكتيريا حمض اللاكتيك .

٧- تقدير كثافة النمو البكتيرى Determination of (Optical density, OD)

وتوجد طريقة تعتمد على أنه كلما زادت درجة تعكير المزرعة Turbidity والتى تعنى زيادة كمية النمو كلما قلت كثافة الأشعة الضوئية النافذة خلال هذه المزرعة . فإذا إستعمل جهاز لقياس الضوء النافذ خلال مزرعة بكتيرية سائلة أو معلق بكتيرى فى ماء مقطر فإنه يمكن قياس كثافة الشعاع النافذ باستعمال وحدة ضوئية حساسة وهذا باستخدام جهاز

Spectrophotometer . ويلاحظ أن كثافة الشعاع تكون متلازمة عكسياً مع درجة تعكير المزرعة والتى تعنى زيادة كمية النمو أى أن النقص فى كمية الضوء النافذ يعتبر دليلاً لتقدير الكثافة الخلوية .

حساب النمو البكتيرى Calculation of bacteria growth

تحت الظروف المناسبة والبيئة الغذائية الملائمة للتضاعف فإن عدد من الخلايا البكتيرية يتضاعف على فترات منتظمة . فإذا بدأنا المجموع بخلية واحدة فإن الكتلة الخلوية وعدد الخلايا يتزايد باستمرار مع الزمن ويتضاعف على فترات ثابتة . وأن الوقت اللازم لكى تنقسم الخلية أو ليتضاعف المجموع تعرف بالوقت الجيلى Generation time ، وهذا الوقت الجيلى يختلف بإختلاف نوع البكتيريا ، فمثلاً فى حالة البكتيريا E. coli يكون من ١٥-٢٠ دقيقة وفى حالة البكتيريا Mycobacterium tuberculosis يكون ٦-١٢ ساعة . درجة الحرارة، حيث تختلف البكتيريا الميزوفيلية عن تلك الثرموفيلية فى درجة حرارة النمو المثلى وبالتالى فى الوقت الجيلى . البيئة الغذائية ، حيث تختلف مدة الوقت الجيلى على أساس تركيب البيئة الغذائية التى تتوفر فيها كل المتطلبات الغذائية . عمر المزرعة، حيث يختلف الوقت الجيلى باختلاف عمر المزرعة لنفس الميكروب هذا علاوة على السلالة البكتيرية قيد الدراسة .

فإذا فرضنا أن خلية بكتيرية واحدة فقط لقحت فى بيئة غذائية مناسبة وملائمة للإنقسام فيمكن تقدير مجموع الخلايا فى الأجيال المتعاقبة كالآتى :

الجيل الأول $G\ 1 = 1 \times 2^1 = 2$

الجيل الثانى $G\ 2 = 1 \times 2^2 = 4$

الجيل الثالث $G\ 3 = 1 \times 2^3 = 8$

الجيل الرابع $G\ 4 = 1 \times 2^4 = 18$

ن من الأجيال $G\ n = 1 \times 2^n = 2^N$

أما إذا بدانا بلقاح A من الخلايا فإن عدد الخلايا B بعد زمن معين هو

$$B = A \times 2^N$$

وبأخذ لوغاريتم الطرفين فإن

$$\text{Log}_{10} B = \text{Log}_{10} A + \text{Log}_{10} 2^N$$

$$\text{Log}_{10} B = \text{Log}_{10} A + N \text{Log}_{10} 2$$

عدد الأجيال

$$\text{Log}_{10} B - \text{Log}_{10} A = N \text{Log}_{10} 2$$

إذن عدد الأجيال

$$G = \frac{\text{Log}_{10} B - \text{Log}_{10} A}{\text{Log}_{10} 2}$$

$$G = \frac{\text{Log}_{10} B - \text{Log}_{10} A}{0.3010}$$

ومن المعادلة الأخيرة فإنه يمكن حساب عدد الأجيال التى حدثت إذا بدأنا بمجموع خلايا مبدئى = A ، وكان مجموع الخلايا B بعد إنتهاء زمن معينt

وعلى ذلك فإن الوقت الجيلى

$$t\,g = t / N$$

$$t\,g = t / \frac{\text{Log}_{10} B - \text{Log}_{10} A}{\text{Log}_{10} 2}$$

$$t\,g = \frac{t \times \text{Log}_{10} 2}{\text{Log}_{10} B - \text{Log}_{10} A} = \frac{t \times 0.3010}{\text{Log}_{10} B - \text{Log}_{10} A}$$

تثبيط النمو Growth inhibition

يتم ذلك باستخدام المواد الكيماوية وهناك أربعة مناطق حساسة بالخلية البكتيرية يمكن للمواد الكيماوية أن تؤثر عليها لأن المواد الكيماوية قد تكون متخصصة أو غير متخصصة . فمثلاً يؤثر على الجدار بعض المضادات الحيوية مثل Penicillin ويتركز تأثيره على جدر البكتيريا الموجبة لجرام

وكذلك لجرام وكذلك إنزيم Lysozyme . أما الغشاء السيتوبلازمى وهـو أول حاجز يقابل المواد الكيماوية بعد إجتيازها الجـدار الخلـوى يفقـد خاصـية الإختيارية عند إستخلاص المحتويات الدهنية بالمواد الكيماوية مثل الأسـيتون والكلوروفورم . والسيتوبلازم هو أحد المناطق الأربعـة الحساسـة بالخليـة البكتيرية حيث يتم التأثير عليه بأحد طريقتين :

١- التفاعل مع البروتين السيتوبلازمى

وهذا يؤدى إلى تمزق القـوى الرابطـة والتـى تحفـظ للبـروتين السيتوبلازمى حالته الغروية لذلك يحدث تجمع أو ترسيب للسـيتوبلازم مثـل المعاملة بالأسيتون أو كبريتات الأمونيوم بتركيز عـالى . كـذلك الإرتبـاط المباشر أو التفاعل مع المجاميع الفعالة فى البروتين السيتوبلازمى مما يـؤدى إلى تأثير سام بهذه المواد الكيماوية .

٢- تعطيل بعض التفاعلات الأيضية

قد تدخل المواد الكيماوية فى التفاعلات الميتابولزمية مما يؤدى إلـى تعطيلها وبالتالى تتوقف الخلية عن النمو عن طريق تعطيل هـذه التفـاعلات المسئولة عن تخليق مواد وسيطة هامة للنمو وتسمى هذه الكيماويات بـالمواد المضادة لتكوين المواد الأيضية الهامة Antimetabolites وهى تتشـابه فـى التركيب إلى حد ما مع المركبات الخاصة بالتمثيل الغذائى فى الخليـة ولـذلك يمكنها أن تتحد مع البروتين الإنزيمى ولكن بطريقة تمنع إسـتمرار التفاعـل بطريقته المعتادة أو أنها تتنافس مع مادة التفاعل الإنزيمى المسئول على سطح البروتين وفى هذه الحالة فأن زيادة تركيز المواد المسئولة عن التفاعل قد يلغى تأثير المواد المتنافسة أو المثبطة .

ويقدر لكل مادة تفاعل أن تلغى التـأثير السـام للنمـو نتيجـة فعـل الكيماويات السامة معامل يسمى معامل التثبيط وهذا المعامل يختلف من مـادة إلى أخرى .

معامل التثبيط = تركيز جزيئات المادة السامة ÷ مادة التفاعل المسئولة عن النمو

ومن هذه المواد التنافسية مركب السلفانيلاميد وهو يتنافس مع حمض البارا أمينوبنزويك خاصة فى خلايا الخميرة .

المنطقة النووية من المناطق الأربع الحساسة بالخلية والتى تتأثر بفعل المواد الكيماوية السامة حيث قد يؤدى تأثير المواد الكيماوية إلى حدوث طفرات Mutations وتعتبر هذه الكيماويات ذات تأثير مطفر ومن هذه المواد الفورمالدهيد وفوق أكسيد الأيدروجين وقد يرجع تأثير هذه المواد على البروتين الخلوى نتيجة حدوث الإرتباط بين هذه المواد وبين المجاميع الفعالة من الأحماض النووية مما يؤدى إلى تغيير الصفات الوراثية .

ومن الكيماويات المستخدمة فى تثبيط نمو البكتيريا الفينول الذى يستخدم لتعقيم الأرضيات والأدوات ويؤدى إلى إفساد البروتين الخلوى والغشاء السيتوبلازمى . الكحولات والتى تعمل على تجميع البروتين الخلوى. اليود حيث له فعل سام لأنه يرتبط بروابط غير تخصصية بالبروتين الخلوى . كذلك تستخدم بعض الصبغات مثل الكريستال البنفسجي وأخضر الملاكيت حيث تمنع نمو البكتيريا الموجبة لجرام دون السالبة لجرام ولذلك تضاف عند تحضير البيئات الإنتخابية . ويمكن إستخدام الفورمالدهيد الذى يؤثر على الخلايا الخضرية بدرجة أكبر من الجراثيم حيث ترتبط مع المجاميع الفعالة القاعدية للبروتين الإنزيمى . هذا علاوة على إستخدام المضادات الحيوية المتخصصة فى ايقاف عمل الميكروبات ومنها ذو تأثير واسع وهى تستخدم فى علاج الأمراض البكتيرية مثل البنسلين على البكتيريا الموجبة لجرام وكذلك ستربتومايسين وتأثيره على البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام .

منحنى النمو البكتيرى Bacterial growth curve

عند تلقيح خلية بكتيرية فى بيئة غذائية مناسبة فإنها تتكاثر بإنتظام بمعدل يتناسب مع الوقت الجيلى . فإذا إستعملنا العدد النظرى للخلايا الذى

سيوجد على فترات منتظمة ووقعت هذه البيانات بطريقتين إما بتوقيع لوغاريتم عدد الخلايا أو بتوقيع عدد الخلايا مع الزمن سنحصل على منحنيات تمثل ما يحدث طبيعياً عند رسم منحنى فيما عدا جزء واحد فقط من منحنى النمو الطبيعى وهو الذى يطلق عليه طور النمو اللوغارتمى Log phase . ولكن تعداد الخلايا سيكون محدداً ليس فقط بنفاذ المواد الغذائية بل أيضاً نتيجة لتراكم النواتج الإيضية السامة . وحيث أن هذه التغيرات فى الظروف البيئية سينتجها الكائن الدقيق الحي بنفسه وعلى ذلك فإن تكشف المجاميع الميكروبية يمكن أن نطلق عليه أنه محدد ذاتياً Self-limited وأنه بعد توقف النمو فإن المجموع سيبدأ فى التناقص نتيجة لموت أفراد المجموع وهذه هى العوامل التى ستحدد شكل منحنى النمو البكتيرى فى مزرعة لا يجدد فيها مصدر المادة الغذائية Batch culture ، وهذا بعكس المزارع الأخرى سواء Feed batch culture أو المزرعة المستمرة Continuous culture . ويظهر من الشكل أنه توجد ٤ أطوار رئيسية فى المزرعة ، كل منها يتميز بمعدل معين فى تغيير المجموع وهى كالآتى :

١- طور الركود Lag phase

وفيه نجد أن معدل النمو = صفر ، أى أن عدد الخلايا يظل ثابتاً لفترة معينة . وفى هذه المرحلة يزداد حجم الخلية حيث يزداد معدل النشاط الأيضى مع زيادة فى معدل تنفس الخلية . هذا وتزداد كمية المكونات الأساسية للمحتويات النووية والمحتويات البروتينية بالخلية . علاوة على زيادة تكوين الأحماض النووية فى الخلية حيث يزداد حمض RNA ثم يزداد حمض DNA فى الزيادة قبل إنقسام الخلية . ويلاحظ أن طور الركود قد لا يحدث فى المزرعة وإذا حدث فى المزرعة فإن طول هذه الفترة قد يختلف . وطور الركود هذا عادة يتسبب إما عن إستعمال لقاح أخذ من مزرعة كبيرة فى العمر

أى فى الطور الثابت أو فى طور الموت ، أو عند النقل من مزرعة نامية فى بيئة ذات تركيب كيماوى مختلف . وعلى العكس إذا نقل اللقاح من مزرعة نامية فى طور النمو اللوغاريتمى إلى بيئة لها نفس التركيب الكيماوى فإن النمو اللوغاريتمى سيظل محتفظاً بنفس المعدل فى البيئة الجديدة ولن تظهر فترة الركود . ومن الناحية الصناعية يكون من الأفضل أن تكون هذه الفترة أقصر ما يمكن .

٢- طور النمو اللوغاريتمى Logarithmic phase

فى هذا الطور Log phase فإن معدل النمو يصل إلى أقصى قيمة ثابتة . وفى خلال هذا الطور فإن كل الخلايا المتكونة ستكون حية ولها حجم ثابت . وأن الخلايا تنقسم بإنتظام ويصل معدل النمو إلى أقصاه والوقت الجيلى يكون ثابتاً هذا علاوة على أن الخلية تكون صغيرة وذات بروتوبلازم متجانس وهو أنسب الأطوار لقياس سرعة النمو . والقيمة العددية لمعدل النمو تتأثر بالعوامل الوراثية والعوامل البيئية والغذائية . وأن أقصى قدرة على التكاثر لكائن معين فى ظروف بيئية مناسبة خاصة وراثية للنوع Species وتختلف كثيراً من نوع لآخر . وأن العوامل التى تؤثر على معدل النمو تشمل طبيعة وتركيز المواد الغذائية ودرجة الحرارة والقوة الأيونية للبيئة الغذائية (pH) . ومن الناحية الصناعية يكون من الأفضل أن تكون هذه الفترة أطول ما يمكن .

٣- الطور الثابت Stationary phase

ويسمى أيضاً Maximum Stationary phase وفيه يكون معدل النمو = صفر ، أى أن التعداد يظل ثابتاً ، أى يحدث وقف للإنقسام أو حدوث توازن بين معدل التكاثر ومعدل الموت ، وذلك ليس فقط نتيجة لتراكم النواتج الإيضية السامة بل أيضاً نتيجة لنفاذ المواد الغذائية . وقد تؤدى النواتج الإيضية إلى خفض درجة حموضة البيئة إلى حد يمنع التكاثر أو قد تكون تلك

المواد ذاتها سامة للميكروب . ويتوقف طول فترة الطور الثابت على درجة حساسية الخلايا البكتيرية للظروف السائدة بالمزرعة حيث يظل عدد الخلايا الحية المنقسمة ثابتاً بها وبذلك كلما زادت حساسية الخلايا وكلما كانت الظروف غير ملائمة كلما قصرت فترة الطور الثابت .

٤- طور الموت Decline phase

ويسمى أيضا بطور التدهور وفيه يكون لمعدل النمو قيما سالبة ، أى أن تعداد الخلايا يتدهور . ويحدث فيه معدل لوغارتمى لموت الخلايا ، وهو عكس المعدل اللوغارتمى للنمو فى الطور اللوغاريتمى Log-phase وقد يطلق عليه طور الموت اللوغاريتمى Phase of logarithmic death وفى حالة مجاميع البكتيريا فإن موت الخلية غالياً لا يصاحبه تحلل للخلية وبذلك فأن الكتلة الخلوية قد تظل ثابتة أو تظهر قليلاً من التدهور خلال هذه المرحلة ولو أن كثيراً من المجموع قد أصبح ميتاً . وقد يصبح الموت تحلل للخلايا وفى هذه الحالة فإن الكتلة تتدهور مع عدد الخلايا الحية ، وأن معدل الموت قد يستمر عدة أيام أو قد تموت الخلايا فى ٢-٣ أيام مثل البكتيريا Neisseria gonorrhoeae التى تسبب السيلان .

الفصل الثامن :
أيض وإنزيمات الخلية البكتيرية

أيض وإنزيمات الخلية البكتيرية

Metabolism and enzymes of bacterial cell

أولاً : الأيض البكتيرى Bacterial Metabolism

تقوم خلية الكائن الحى بالتحولات الأيضية التى من شأنها القيام بوظيفتين رئيسيتين الأولى هى توليد الطاقة Energy-generation ، ويطلق على هذه العمليات فى الخلية بعمليات الهدم Catabolism . أما الوظيفة الثانية هى إستهلاك الطاقة Energy-consumption وتعنى القيام بالتفاعلات التى تستهلك الطاقة أى أنها عمليات وطرق التخليق الحيوى Biosynthetic pathways ، كما يطلق على هذه العمليات أيضاً بعمليات البناء Anabolism. وتتم عملية النمو نتيجة لعمليات الهدم التى عادة ما تسبق عمليات البناء ، ولن جزء من الطاقة المشتقة من الهدم تستغل فى عمليات التخليق الحيوى أيضاً .

لذلك تستطيع خلية البكتيريا القيام بكافة الوظائف الحيوية المعقدة التى تتم فى الكائنات الحية الأخرى كالنبات والحيوان بل أن النشاط الحيوى للبكتيريا يزيد عن مثيله فى هذه الكائنات . وعلى الرغم من تشابه بروتوبلازم الخلية فى جميع الكائنات الحية إلا أن الإحتياجات الغذائية لكل كائن حى يتوقف على ما يحتويه من نظم إنزيمية . فالنبات يستطيع تخليق الكربوهيدرات فى عملية التمثيل الضوئى وله القدرة على تخليق الأحماض الأمينية من الأملاح النيتروجينية المعدنية . أما الحيوان فيحتاج لإمداده بالمواد الكربوهيدراتية والأحماض الأمينية والأملاح المعدنية والفيتامينات لعدم قدرته على تخليقها . ويختلف الحال فى البكتيريا حيث تستطيع مجموعة معينة من البكتيريا وهى البكتيريا الأوتوتروفية تخليق كل مكوناتها من

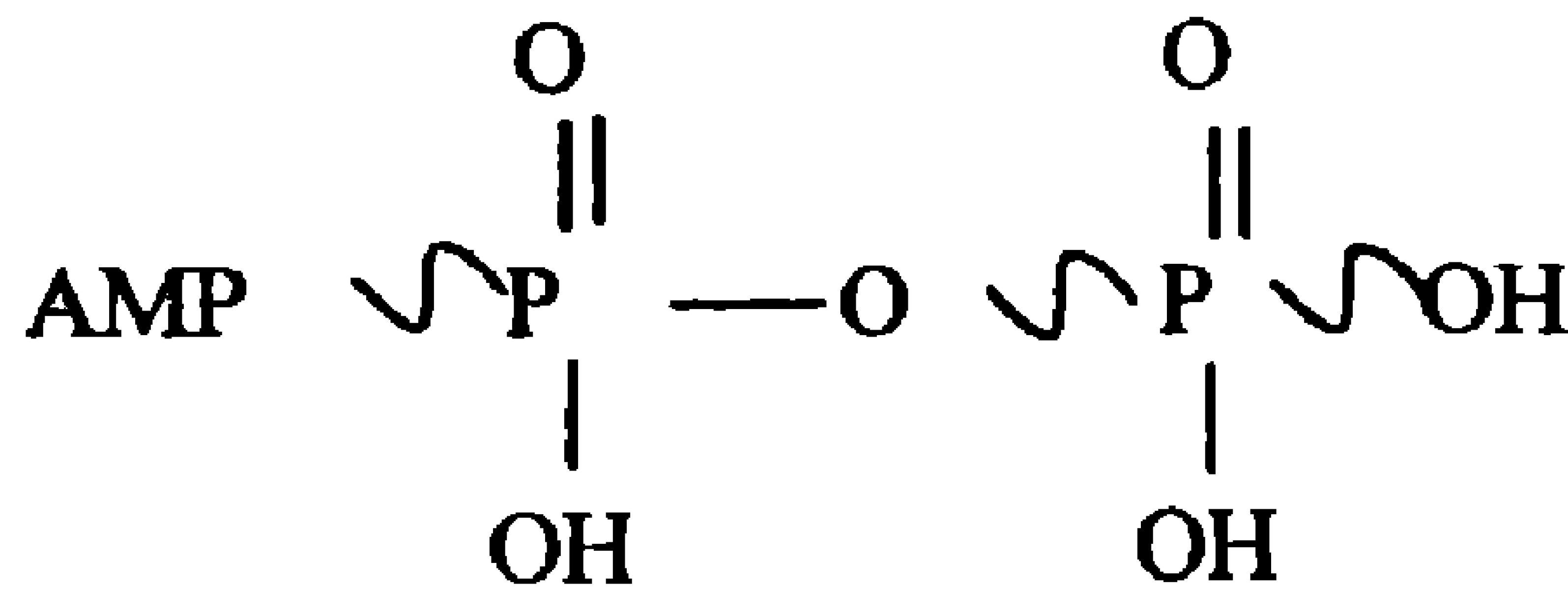
الأملاح المعدنية البسيطة وتحصل على طاقتها بأكسدة المواد المعدنية أو من عملية التمثيل الضوئى . بينما تحصل مجموعة أخرى من البكتيريا الهتيروتوفية على طاقتها من أكسدة المواد الكربوهيدارتية التى تعتبر مصدراً للطاقة والكربون . وتشتمل دراسة التمثيل الغذائى للبكتيريا عمليات الهدم والبناء لكل من المواد الكربوهيدراتية والنيتروجينية والدهنية والأحماض النووية والتوكسينات والصبغات وسنقتصر فى دراستنا على التحولات الغذائية لكل من المواد الكربوهيدراتية والنيتروجينية والدهنية .

روابط الطاقة الخلوية Cellular energy bonds

قد يكون هناك إتجاه جزء من الطاقة الحرة نتيجة لبعض التفاعلات الكيميائية المنتجة للطاقة ، والتى تستعمل فى عمليات أخرى مرافقة لعمليات إنتاج الطاقة والتى من شانها القيام بعمليات البناء . وتعرف هذه العمليات بالعمليات المزدوجة Coupling reaction وهو نوع من الإرتباط بين عمليات الهدم والبناء معاً .

ولن العمليات الأيضية التى من شأنها إنتاج الطاقة تقوم بتخزين الطاقة الناتجة فى صورة روابط معينة تعرف بالروابط الغنية بالطاقة Energy-rich bonds . وهذه الروابط توجد فى بعض المركبات التى تعمل كناقلات للطاقة Energy carriers حيث أن محتواها من الطاقة الكامنة يمكن أن يستعمل جنباً إلى جنب مع التفاعلات التى تحتاج إلى الطاقة فى التخليق الحيوى لمكونات الخلية . وأن المركبات التى تعمل كناقلات للطاقة والتى تربط أو تصل بين الهدم والبناء وهى أدينوزين تراى فوسفات Adenosine triphosphate (ATP) ومركب بيريدين نيوكليوتيد المختزل Reduced pyridine nucleotides . وأن التركيب الكيماوى للـATP يبدو أنه مشتق من النيوكليوتيد Adinosine monophosphate (AMP) والذى

يضاف إليه مجموعتين فوسفات تـرتبط بـروابط بيروفوسـفاتية . هاتـان الرابطتان الأخيرتان يرمز لهما برابطة مموجة ~ ، أى أنها روابـط غنيـة بالطاقة . وهذه تتكون نتيجة تحويل الفوسفات المعدنى إلى فوسفات عضوى فى صورة تلك الروابط والتى عن طريق التحليـل المـائى تعطـى طاقـة Adinosine monophosphate (AMP) وتتحرر كمية من الطاقة كحـرارة والتى قد تصل إلى أكثر من ٨ كيلو كالورى / رابطة فى الجزئ



وفى النظام الطبيعى فإن الطاقة النهائيـة الكامنـة فـى الـرابطتين الفوسفوريتين فى المركب ATP لا تتحرر طبيعياً كحرارة بواسطة التحلـل المائى البسيط ، ولكن يحدث إتصال للطاقة عن طريق نقل واحدة أو إثنـين من روابط الفوسفات الغنية تاركة المركب الأحادى الفوسـفات AMP إلـى جزئ المادة العضوية التى هى المستقبل النهائى ، وأن جـزء مـن طاقـة الرابطة يحفظ فى الجزئ الجديد المفسفر المتكـون . ويمكـن القـول بـأن تفاعلات النقل هذه تستطيع الإحتفاظ بـ ٨ كيلو كالورى نتيجة وجود رابطة الفوسفات ، وعلى ذلك فإنه بالرابطتين الطرفيتين للـ ATP فإن ذلك سوف يمثل طاقة تقدر بـ ١٦ كيلو كالورى . كذلك يمكن إستعمال طاقة الرابطـة الفوسفاتية للـATP بتحويل الـATP إلـى ADP . وأن أحـد الوظـائف الأساسية للتفاعلات التى تنتج الطاقة هو إعادة توليد الـATP عـن طريـق إعادة تخليقه من الـADP عن طريق إضافة رابطـة فوسـفورية جديـدة باستعمال الفوسفور غير العضوى .

هذا وأن عمليات التخليق الحيوى تحتاج إلى طاقة يحصل عليها من الرابط الغنية بالطاقة مثل ATP . وبالإضافة إلى ذلك فإنها غالباً تحتاج إلى قوة إختزالية Reducing power والتى تشتق من توالى تفاعلات الهدم . ويتم نقل هذه القوة الإختزالية من التفاعلات التى تعطى الطاقة إلى تفاعلات التخليق الحيوى التى تحتاج إلى إختزال عن طريق جزيئين هما (AND) Nicotinamide adenine dinucleotide ، (NADP) Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate . واللذان يمكنهما الدخول فى تفاعلات أكسدة أو إختزال وأن الصورة المؤكسدة من كل منهما تحمل ذرة إيدروجين أقل من التى تحملها الصورة المختزلة . وبالإضافة إلى ذلك فهى تحمل شحنة موجبة على ذرة الإيدروجين والتى تجعل لها القابلية لتستقبل إلكترون ثان عند الإختزال .

وعلى ذلك فالتفاعل العكسى للأكسدة والإختزال للـ NAD يكون كالآتى :

$$NAD^+ + 2H \rightleftharpoons NADH + H^+$$

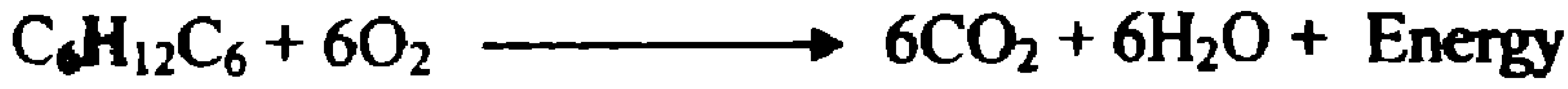
ويمكن القول بأن الطاقة الإختزالية التى تنتج خلال التفاعلات الأيضية التى تنتج طاقة وتنتج $NADPH_2$ و $NADH_2$ يمكن أن تستعمل فى تفاعلات التخليق الحيوى التى تحتاج إلى إختزال . وكذلك فى التنفس لإنتاج مركب ATP خلال التفاعلات المصاحبة لنقل الإلكترونات إلى الأكسجين .

التنفس البكتيرى Bacterial respiration

يشمل التنفس الحيوى Biological oxidation فى البكتيريا جميع التفاعلات التى ينتج عنها إنطلاق طاقة داخل الخلية البكتيرية . وللتنفس فى البكتيريا وظيفتين هامتين مرتبطتين ببعضهما هما إنتاج الطاقة اللازمة لحياة ونمو البكتيريا ، وتخليق بروتوبلازم الخلية من النواتج الوسطية الحيوية

Precaursors لعملية الأكسدة . ويتم الحصول على الطاقة نتيجة عمليات الأكسدة الحيوية Biological oxidation ويعبر عنها بالآتى :

١- إكتساب المادة للأكسجين



$$C_6H_{12}C_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy}$$

٢- فقد المادة للأيدروجين



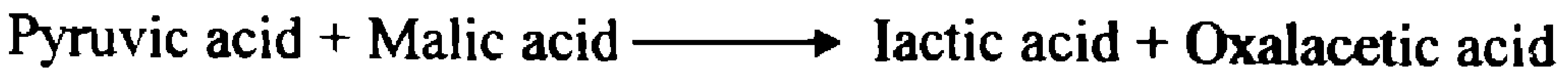
$$CH_3—CHOH—COOH \longrightarrow CH_3—CO—COOH+2H+ \text{ Energy}$$

٣- فقد المادة للإلكترونات



$$Cu^{+} + Fe^{+++} \longrightarrow Cu^{++} + Fe^{++}$$

وهنا نجد أن أيون الحديديك قد أكتسب إلكترون من أيون النحاسوز وبذا فقد إختزل إلى أيون الحديدوز وفى نفس الوقت تم اكسدة أيون النحاسوز إلى أيون النحاسيك أى أن أكسدة أى مادة يصاحبها إختزال مادة أخرى حيث تفقد المادة التى ستؤكسد إلكترونات تكتسبها المادة التى ستختزل . أما فى حالة أكسدة المادة العضوية كما هو الحال فى معظم أنواع التنفس البكتيرى فإن ذلك يشمل إنتقال ذرات أيدروجين بالإضافة إلى إنتقال إلكترونات . ويمكن توضيح ذلك بما يحدث عند أكسدة حمض الماليك إلى حمض أكسالوأستيك وإختزال حمض البيروفيك إلى حمض اللاكتيك كما يحدث فى المعادلة الآتية:



Pyruvic acid + Malic acid ⟶ Iactic acid + Oxalacetic acid

حيث نجد إنتقال ذرتى أيدروجين وكذا إلكترونين من حمض الماليك إلى حمض البيروفيك وينتج عن ذلك أكسدة حمض الماليك إلى حمض الأكسالوأستيك بينما إختزل حمض البيروفيك إلى حمض اللاكتيك . ويمكن التعبير عن التنفس البيولوجى بالمعادلة الآتية :



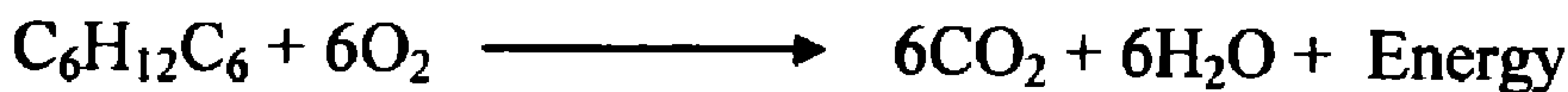
$$A\text{-}H_2 + B \longrightarrow A + B\text{-}H_2$$

حيث تعرف المادة A-H2 بأنها المـادة التـي ستؤكسـد كمعطـي الأيدروجين Hydrogen donor والمادة B هي المادة التي ستختزل كمستقبل الأيدروجين Hydrogen acceptor ويلزم لإتمام عملية التأكسد والإختزال في البكتيريا ذاتياً توفر إنزيمات متخصصة وهي إنزيمات التنفس Respiration enzymes (Oxido-reductases) التي تعمل على تنشيط الأيـدروجين فـي المادة المعطية للأيدروجين ليسهل نقله إلى المواد المستقبلة له . وعلى الرغم من أن هذه الإنزيمات تدخل في تفاعلات التأكسد والإختزال فهي لا تسـتنفذ في نهاية التفاعلات . ولذا تعتبر حاملـة للأيـدروجين Hydrogen carrier ولكل إنزيم منها صورتين واحدة مؤكسدة والأخرى مختزلة . وينقسم التنفس في البكتيريا عموماً إلى قسمين :

أولاً : التنفس الهوائي Aerobic respiration

وفيه يكون مستقبل الإيدروجين النهائي هو الأكسجين الجوى حيـث يتم إنتقال أيدروجين التفاعل إلى O2 الجوى . وتتم الأكسدة في هذا النوع من التنفس بطريقتين هما :

أ- أكسدة كاملـة Complete oxidation وتقـوم البكتريـا الهتيروتوفيـة Heterotophic bacteria بأكسدة المواد العضوية أكسدة كاملة إلـى ثـانى أكسيد الكربون والماء ويتم ذلك عن طريق دورات حيوية pathways معينة. ويمكن ترجمة هذه الأكسدة بالمعادلة



$$C_6H_{12}C_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy}$$

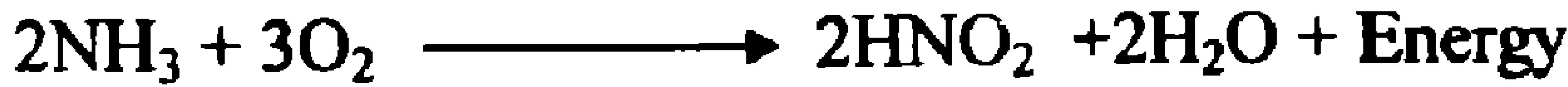
بينما تقوم البكتيريا الممثلة للمواد المعدنيـة Chemolithotrophic bacteria بالأكسدة الكاملة للمواد المعدنية للحصول على الطاقة مثل ميكروب *Thiobacillus thiooxidans* ويمكن ترجمة هذا التفاعل كالآتي :



$$2S + 3O_2 + 2H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 + Energy$$

ب- أكسدة غير كاملة Incomplete oxidation وفى هذا النوع من الأكسدة نجد أن الميكروبات الممثلة للمواد العضوية تقوم بأكسدة المادة العضوية جزئياً إلى مركبات تتراكم فى بيئة النمو ومن أمثلة الميكروبات التى تقوم بهذا النوع من الأكسدة هى الميكروبات التابعة لجنس *Acetobacter* مثل بكتيريا حامض الخليك *Acetobacter aceti* التى تؤكسد كحول الإيثانول إلى حامض خليك . $CH_3—CH_2OH + O_2 \longrightarrow CH_3—COOH + Energy$

كذلك فطر *Aspergillus niger* الذى يؤكسد المادة العضوية إلى حمض ستريك . أما بالنسبة للميكروبات الممثلة للمواد المعدنية Nitrifying bacteria فتؤكسد المواد المعدنية جزئيا مثل ميكروب *Nitrosomonas* الذى يجرى التفاعل الآتى :



$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + Energy$$

ويرجع حدوث الأكسدة الجزئية إلى عدة أسباب منها أن تكون كمية الأكسجين الميسرة تكون للميكروب غير كافية بحيث إذا توفرت فإن الميكروب قد يستطيع أن يقوم بالأكسدة الكاملة أو قد يكون الوقت غير كاف لإتمام الأكسدة الكاملة أو أن يكون الميكروب نفسه غير قادر على إتمام عملية الأكسدة الكاملة لعدم إمتلاكه للنظم الإنزيمية اللازمة للقيام بالعملية .

أكسدة حمض البيروفيك Pyruvic acid oxidation

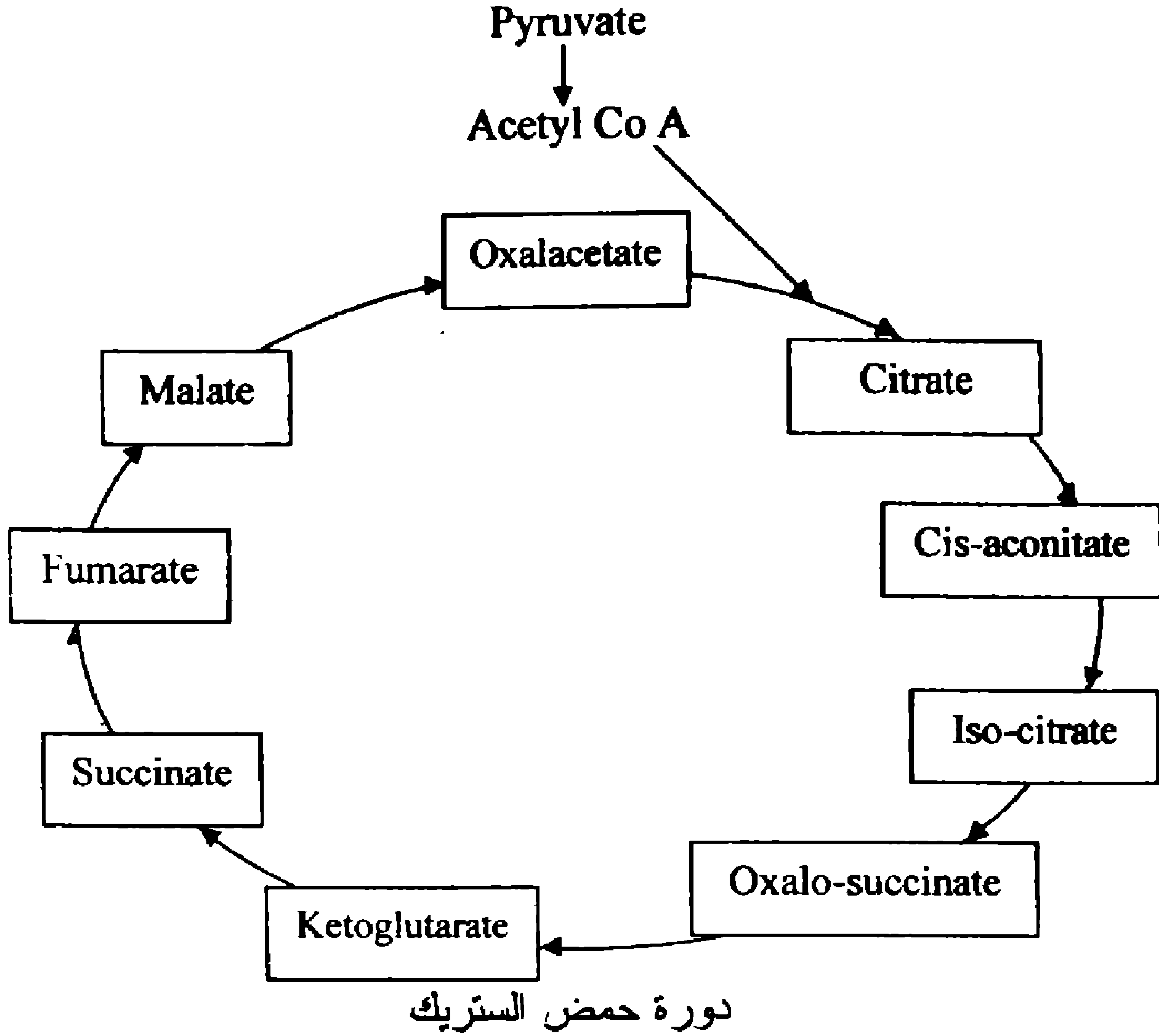
دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل Tricarboxylic acid cycle

يعتبر تخمر الجلوكوز إلى حمض البيروفيك وتحوله إلى مركبات مختلفة أثناء نظم التخمر المختلفة ، من التفاعلات التى لا يشارك فيها الأكسجين الجوى ولذا فإن معظم كميات الطاقة الناتجة فى الميكروبات اللاهوائية تنتج فقط خلال تكسر الجلوكوز إلى حمض بيروفيك أما

الميكروبات الهوائية واللاهوائية إختياراً أى الميكروبات التى لها القدرة على النمو فى وجود الأكسجين فإن لها القدرة على الإستمرار فى أكسدة حمض البيروفيك إلى ثانى أكسيد الكربون والماء . ويتم ذلك خلال دورة كربس Krebs والتى تعرف أيضاً باسم دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل Tricarboxylic acid cycle أو دورة حمض الستريك ويدخل حمض البيروفيك الناتج من التخمر دورة حمض الستريك فى صورة Acetyl CoA الذى يتم تكثيفه مع حمض الأكسالخليك لتكوين حمض الستريك وهذا الحمض الأخير يدخل فى دورة تشمل سلسلة من تفاعلات الأكسدة يتكون من خلالها العديد من جزيئات المرافق الإنزيمى المختزل NADH مع إزالة ثانى أكسيد الكربون فى العديد من تفاعلات الدورة كما يؤدى ذلك إلى تكوين العديد من المركبات رباعية وخماسية الكربون . وأخر مركب رباعى يتكون فى الدورة هو حمض الأكسالخليك وعند هذه النقطة يعاد إتحاد هذا الحمض مع جزئ Acetyle CoA ويعنى ذلك تمام أكسدة حمض البيروفيك خلال دورة واحدة الذى يدخل من أكسدته تكوين ثانى أكسيد الكربون والماء مع إنطلاق كميات كبيرة من الطاقة . ولا تعمل دورة كربس إلا فى وجود الأكسجين ليسنى أكسدة NADH وإنتاج الطاقة وبالتالى لا تعمل هذه الدورة ألا فى الميكروبات الهوائية أو الميكروبات اللاهوائية أختياراً التى تعمل فى وجود وغياب الأكسجين ولذا فإنها تنتج الطاقة فى غياب الأكسجين وتنتج الطاقة أيضاً فى توافر الهواء ولكن خلال دورة كربس .

وهنا ونلاحظ أن إنتاج كميات كبيرة من الطاقة فى صورة جزيئات ATP خلال الدورة نتيجة لأكسدة المرافق الإنزيمى المختزل NADH بنظام مختلف تماماً عن تكون ATP خلال تخمر الجلوكوز خلال دورة أمبدن مايرهوف بارانس أو الدورات الأخرى . إنتاج مركبات وسطية هامة هى

المركبات رباعية وخماسية الكربون والتى تعتبر مواداً أولية هامــة لتخليــق العديد من الأحماض الأمينية ومركبات أخرى هامة للخلية الميكروبية .



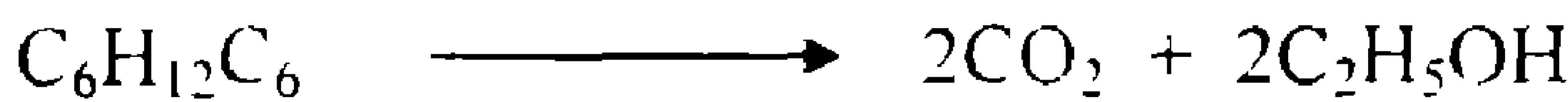
دورة حمض الستريك

أيض المركبات الكربوهيدراتية Metabolism of carbohydrate

تعتبر الكربوهيدرات المواد الأساسية لإنتاج الطاقة وتكوين كثير مــن المركبات الكربونية فى البكتيريا الممثلة للمواد العضوية فإذا مــا نمــت هــذه البكتيريا على السكريات البسيطة كالجلوكوز فإنها تمتصه مباشـــرة وتؤكســده للحصول على الطاقة . أما إذا إحتوت بيئة النمو على سكريات معقــدة فــإن البكتيريا تفرز عليها إنزيمات خارجية Extracellular تكســيرها لمكوناتهــا

الأساسية من السكريات الأحادية البسيطة حتى تتمكن من إمتصاصها وتمثيلها ومعظم هذه الإنزيمات الخارجية تعتبر من إنزيمات التحلل المائى . ومن أمثلة السكريات المعقدة التى تحللها البكتيريا النشا وهو عبارة عن سلسلة طويلة من سكر الجلوكوز فى الوضع ألفا يحلله الكثير من أنواع البكتيريا بإفراز مجموعة إنزيمات الأميليز Amylases . ومن هذه المواد أيضاً السليولوز وهو عبارة عن سلسلة طويلة من سكر الجلوكوز فى الوضع بيتا ولعدد قليل من البكتيريا القدرة على تحليله بإفراز مجموعة إنزيمات السليوليز Cellulases . كذلك من السكريات المعقدة المواد البكتينية وهى سلسلة طويلة من حمض الجلاكتورونيك تحلله أنواع معينة من البكتيريا إلى وحداته البنائية .

ويلاحظ أن كمية الطاقة الفعلية الناتجة عن عمليات الهدم والتى تستعمل فى تفاعلات البناء غالباً ما تكون أقل من كمية الطاقة الكلية المتاحة داخل الخلية . حيث وجد أنه عند التخمر الكحولى للسكريات فإن الطاقة الحرة المتحررة بتحويل جزئ واحد من الكربوهيدرات إلى ٢ جزئ من كحول الإيثانول وجزيئين من CO_2 تصل الى ٥٦ كيلو كالورى فقط وفقاً للمعادلة الآتية :



$$C_6H_{12}C_6 \longrightarrow 2CO_2 + 2C_2H_5OH$$

فى حين أن الكمية التى تكون متاحة فى الحقيقة لتسيير التفاعلات التى تستهلك الطاقة تكون حوالى ١٦ كيلو كالورى . وعلى ذلك تكون الكفاءة الحقيقية للتخمر الكحولى ٢٨,٥٧ % وأن بقية الطاقة الناتجة تفقد فى صورة حرارة .

ومما سبق يتضح لنا أهمية إحتياج الخلية للطاقة لإتمام آلاف التفاعلات التى تتم بها أى أن الخلية تحتاج للطاقة للقيام بكافة نشاطتها الحيوية فمثلاً تحتاج الخلية للطاقة لمضاعفة كل مكون خلوى بها أثناء التكاثر بالإنقسام كما تحتاج الميكروبات المتحركة للطاقة للتمكن من الحركة . ومن

هذا يتضح أن إنتاج الطاقة فى الصورة الصالحة للإستخدام هو من التفاعلات الهامة فى التمثيل الغذائى Metabolism ويجب الإشارة إلى فقد جزء من الطاقة الناتجة فى التميل الغذائى فى صورة حرارة .

ولكى تكون الطاقة المنتجة فى صورة صالحة للإستخدام يحتاج الميكروب إلى مركبات خاصة لنقل الطاقة من مكان إنتاجها إلى المكان الذى يحتاج الطاقة لإتمامه . ومن أهم المركبات الناقلة للطاقة فى الخلية الحية مركب ثلاثى فوسفات الأدينوسين Adinosine triphosphate (ATP) . ويتم تخليق هذا المركب فى الميكروبات من تكسير الجلوكوز والسكريات الأخرى وتستخدم الطاقة الناتجة لدفع تفاعلات البناء الحيوى Biosynthetic reactions التى تحتاج أو تستهلك كميات كبيرة من الطاقة . وترجع قابلية مركب ATP لنقل الطاقة لإحتوائه على روابط فوسفاتية غنية بالطاقة High energy phosphate bonds يرمز لها بالرمز (~) ويم تكوين هذا المركب فى الكائنات الدقيقة بثلاث طرق مختلفة تتم فى الميكروبات اللاهوائية والميكروبات الهوائية والميكروبات الممثلة للضوء .

ثانيا : التنفس اللاهوائى Anaerobic respiration

فى هذا النوع من التنفس تتأكسد مادة التفاعل حيث يتم بنقل الأيدروجين منها على مادة أخرى غير الأكسجين الجوى وبالطبع فإن الأكسدة تكون غير كاملة وينتج عنها تكوين غازات وأحماض عضوية وكحولات ومواد أخرى . وتختلف هذه النواتج حسب نوع الميكروب وطبيعة مادة التفاعل ودرجة الحرارة والـpH . وتجدر الإشارة إلى أن نمو الميكروب تحت الظروف اللاهوائية نتيجة إستهلاك وحدة واحدة من مادة التفاعل يعادل ٥-٦ مرات نموه فى غياب الأكسجين بمعنى أنه فى حالة التنفس الهوائى تنطلق كمية من الطاقة أكبر بكثير منها فى حالة التنفس

اللاهوائى فنجد مثلاً الخميرة تستطيع ان تنمو تحت كل الظروف الهوائية واللاهوائية ولكنها تستغل المواد الغذائية وخصوصاً الكربوهيدراتية بكفاءة أكبر تحت الظروف الهوائية عن تلك الظروف اللاهوائية .

وقد أوضح باستير أنه يمكن الحصول على ١ جرام خميرة من ٤-١٠ جرام جلوكوز تحت الظروف الهوائية بينما تحتاج إلى ٦٠-٨٠ جرام جلوكوز للحصول على نفس كمية النمو وتحت الظروف اللاهوائية وهذا ما يطلق عليه تأثير باستير Pasteur effect .

الطاقة هى القدرة على أحداث العمل . وتحصل الكائنات الحية الدقيقة عموما على الطاقة اللازمة لها للقيام بكافة نشاطاتها الحيوية عن طريق تفاعلات الأكسدة والإختزال . وتتميز البكتيريا عن بقية الكائنات الحية بقدرتها على إستخدام مصارد طاقة متعددة . وتختلف مصادر الطاقة حسب نوع البكتيريا فنجد ان البكتيريا الممثلة للضوء Phototrophic bacteria تستخدم ضوء الشمس كمصدر للطاقة ، بينما تؤكسد البكتيريا الأوتوتروفية الممثلة للضوء Photolithoautotrophic bacteria المواد الكيماوية غير العضوية كمصدر وحيد للطاقة . والبكتيريا الممثلة للمواد العضوية Chemoorganoheterotrophic bacteria لها القدرة على أكسدة معظم المواد العضوية ولو أن المواد الكربوهيدراتية تمثل مصدر الطاقة الرئيسى لها بالإضافة إلى الأحماض العضوية والحكولات . وتستطيع أنواع عديدة من البكتيريا إيستخدام الكثير من المواد الكربوهيدراية كمصدر للطاقة فيما عدا القليل منها مثل ميكروب *Clostridium klyverii* الذى يؤكسد كحول الإيثانول كمصدر وحيد للطاقة .

ويجب تحويل الطاقة الناتجة عن عملية التنفس إلى الصورة الصالحة أو القابلة للإستفادة بواسطة الميكروب حتى يستخدمها فى عمليات البناء

والتخليق . ويتم ذلك عن طريق تفاعلات إنزيمية معقدة يحتوى بعضها على تفاعلات خاصة بالفوسفور العضوى والفوسفور غير العضوى (حامض الأرثوفوسفوريك) وبذلك يتم تحويل أو خزن الطاقة فى مركبات غنية بالطاقة مثل ATP للإستفادة منها للبناء الخلوى . وتجدر الإشارة إلى أنه عند أكسدة مصدر كربوهيدراتى مثلا بواسطة البكتيريا فإن جزءاً منه يتأكسد إلى ثانى أكسيد الكربون وماء للحصول على الطاقة والجزء الثانى يستخدم فى بناء كربوهيدرات الخلية بواسطة نظام يعرف باسم Oxidative assimilation بإستغلال الطاقة الناتجة من أكسدة الجزء الأول . ومن هذا يتبين لنا أن عملية الأكسدة يصاحبها عملية تخليق مركبات غنية بالطاقة مثل Acetyl Co A ، ATP وهذا يعرف باسم Oxidative phosphorylation ويتم الحصول على الطاقة إما بالأكسدة المباشرة Direct oxidation . ويعتبر هذا النظام نادر الحدوث وفيه ينقل الإيدروجين من المادة المختزلة إلى الأكسجين الجوى مباشرة عن طريق إنزيم ديهيدروجينيز يسمى الأكسيديز الذى يختزل الأكسجين الجوى إلى فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2. أو يتم بالأكسدة بواسطة السيتوكروم . وفى هذا النظام نجد الأكسدة المباشرة بواسطة السيتوكروم Direct cytochrome pathway ينقل الإيدروجين إلى إنزيم الديهيدروجينيز الذى ينقله بدوره إلى مجموعة من صبغات السيتوكروم والأخيرة تختزل الكسجين إلى ماء . وهناك نظام الأكسدة غير المباشرة بواسطة السيتوكروم Indirect cytochrome pathway والذى يعتبر هذا النظام من اهم النظم لنقل أيدروجين مادة التفاعل إلى الأكسجين الجوى وفيه ينتقل الإيدروجين إلى إنزيم ديهيدروجينيز ومنه إلى سلسلة من الإنزيمات التى تنقله إلى صبغات السيتوكروم ثم إلى إنزيم سيتوكروم أوكسيديز الذى يختزل الأكسجين الجوى إلى ماء .

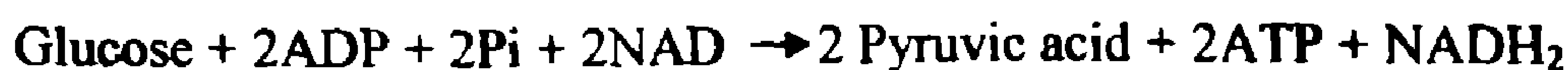
هذا ويعتبر التخمر Fermentation هو أبسط طرق الأيض الحيوى التى تؤدى إلى إنتاج الطاقة . ويعرف التخمر بأنه أى عملية تنتج طاقة والتى تعمل فيها المركبات العضوية كمعطية ومستقبلة للإليكترونات فى غياب الكسجين . وتعتبر الكربوهيدرات من مواد التفاعل الأساسية فى عملية التخمر . وكثير من الكائنات التى تحصل على ما يلزمها من الطاقة عن طريق التخمر تعتبر كائنات غير هوائية إجباراً ، وبعض الكائنات غير الهوائية إختياراً تكون قادرة أيضاً على أن تنمو إما فى وجود أو غياب الهواء وأن تقوم بالتخمر . وهناك حالات نجد فيها أن بعض الكائنات غير الهوائية التى تقوم بعملية التخمر تغير من نظم الأيض الحيوى التى تنتج بها الطاقة عندما تتعرض للهواء ، وأن وجود الأكسجين الجزيئى يؤدى إلى حدوث إنتقال أيض من التخمر إلى التنفس .

ولكن توجد مجموعة من البكتيريا وتعتبر غير هوائية إختياراً ، وهى بكتيريا حمض اللاكتيك فإن وجود الأكسجين لا يغير من طريقتها الإيضية المنتجة للطاقة فهى تواصل التخمر حتى ولو كانت نامية فى الهواء .

وتوجد دورات حيوية Pathways مختلفة لتخمير الكربوهيدرات تختلف بإختلاف المجاميع الميكروبية المختلفة . وأن كل مادة كربوهيدراتية أو مادة مشتقة من الكربوهيدرات يمكن أن تستعمل كمصدر لإنتاج الطاقة التخمرية بواسطة بعض الكائنات الدقيقة .

وأن أى مصدر مثل الجلوكوز يمكن أن يتخمر ويتحول عن طريق أحد المسارات المعينة إلى حمض بيروفيك والذى يعتبر مركب وسطى اثناء التحولات التخمرية للكربوهيدرات . وعن طريق دورة Glycolytic pathway يتحول الجلوكوز إلى حمض البيروفيك كمادة وسطية ويسمى هذا النظام باسم The Embden-Meyerhof system .

ويحدث هدم للجلوكوز ، ويصاحب ذلك إنتاج طاقة فى صورة روابط غنيــة بالطاقة مثل مركب ATP وتكوين مركب الــNAD المختزل كالاتى :



$$\text{Glucose} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi} + 2\text{NAD} \rightarrow 2\ \text{Pyruvic acid} + 2\text{ATP} + \text{NADH}_2$$

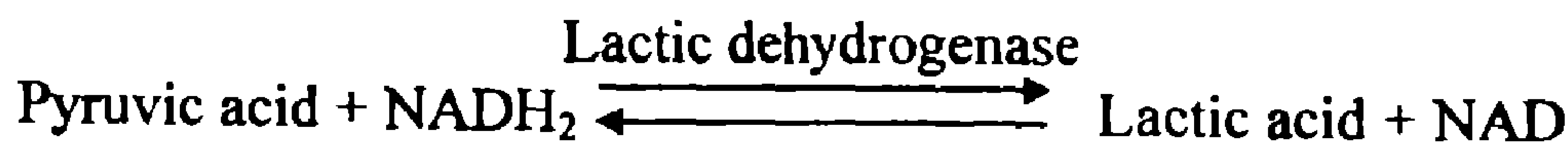
Pi = Inorganic phosphate

أما تحت الظروف الهوائية فى حالة التنفس فإن حمــض البيروفيــك المتكون يتأكسد خلال دورة كربس وينتج عن ذلك عديد من المواد مثل CO_2 والماء ومركب ATP .

ويلاحظ أن حمض البيروفيك الناتج من عمليات هدم الجلوكوز يمكن أن يهدم بواسطة المجاميع البكتيرية أو غيرها من الخلايــا الحيــة بإحــدى الطرق الأيضية الأتية :

١ - التخمر اللاكتيكى The lactic fermentation

مثــــل بكتيريـــا حمـــض اللاكتيـــك متماثلـــة التخمـــر Homofermentative lactic acid bacteria ويتم ذلك أيضا بداخل خلايــا العضلات . وفى كلا الحالتين يلزم ظروف غير هوائية تماماً لحــدوث هــذا النوع من التخمر وقد يكون النـــاتج حمــض لاكتيــك فقــط Homolactic fermentation كما يلى :



$$\text{Pyruvic acid} + \text{NADH}_2 \xrightleftharpoons{\text{Lactic dehydrogenase}} \text{Lactic acid} + \text{NAD}$$

فهى تعطى حمض لاكتيك فقط مثل بكتيريـــا *Streptococcus* sp. ، *Lactobacillus* sp. أو يكون ناتج هدم حمض البيروفيك عديد من النـــواتج تسمى Heterofermentative منها حمض لاكتيك ومواد أخرى مثل كحــول إيثانول و CO_2 وحمض فورميك فيطلق على هذا النوع من التخمر تخمــر لاكتيكى مختلط Heterolactic fermentation .

يثبت بجزئ البيروفيك جـزئ CO_2 وذلـك عـن طريـق عمليـة Carboxylation ليكون حمض أوكسالأسيتيك Oxalacetic acid ، وهو أحد المركبات الوسطية فـي دورة كـربس . ويمكـن عـن طريـق عمليـات Transamination أن تتحول إلى أحماض أمينية مثل ألانين وهذا يعتبر أحد طرق إرتباط التحولات الأيضـية الكربوهيدراتيـة بـالتحولات الأيضـية البروتينية .

٢- التخمر المختلط The mixed fermentation

في كثير من البكتيريا غير الهوائية إختياراً مثل البكتيريـا التابعـة للأجناس *Escherichia* و *Salmonella* و *Shigella* و *Vibrio* و *Proteus* تحدث تخمراً مختلطاً . كما في حالة بكتيريا *E. coli* فإن مجمـل التفاعـل يمكن تمثيله بالآتي :

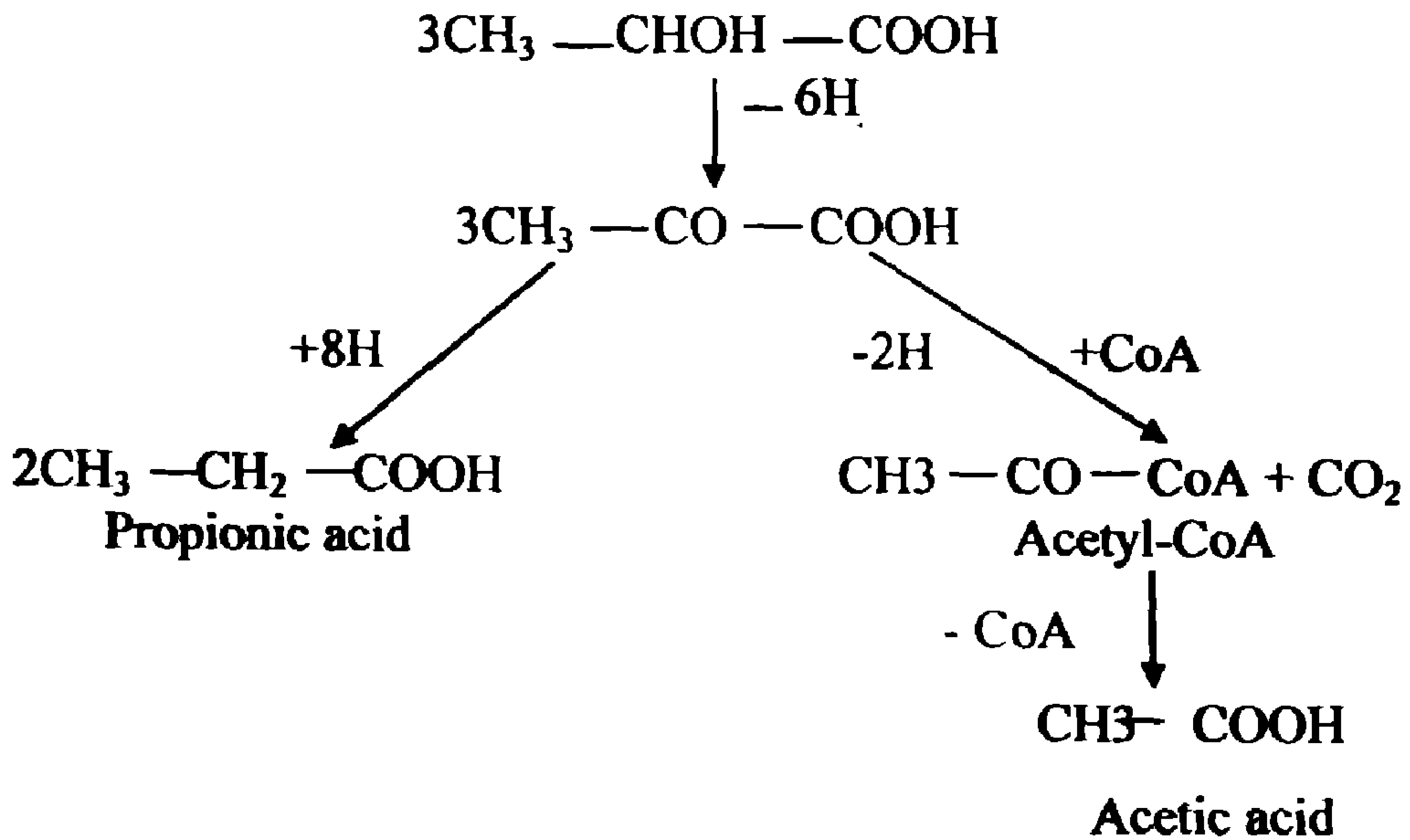


$$2Glucose + H_2O \longrightarrow 2Lactate + Acetate + Ethanol + 2CO_2 + 2H_2$$

وفي بعض الحالات مثل أنواع من الـ*Shigella* لا يتكـون CO_2 وH_2 بل يحل محلهما بكميات متكافئة ناتج نهائي هـو حمـض الفورميـك HCOOH ، وهو مصدر إنتاج الغازات بهذه البكتيريا ، إلا أن بعض أنواع جنس *Clostridium* يمتلك إنزيم يحول البيروفيك إلى Acety Co A + H_2 + CO_2 مباشرة دون تكوين حمض فورميك كمركب وسطي . وعلى ذلـك ففي بكتيريا *E. coli* فإن حمض الفورميك يتحول إلى CO_2 وH_2 ، والـذى يمكنه أن يتحد مع الحمض الأميني جليسين ليتكون حمض السيرين والـذى يدخل بدوره في التفاعلات الأيضية للبروتينات أو في تكوين البيوريـنـات ، فهو بذلك لا يعتبر من المواد المستغنى عنها بل يستخدم في العمليات البنائية الخلوية . كما يمكن أن يتكون في بعض البكتيريا غير الهوائية إختياراً مثـل أنواع تابعة للأجناس *Erwinia* و *Aerobacter* و *Serratia* وبعض أنواع

من الجنس *Bacillus* بجانب النواتج النهائية المختلفة السابق الإشارة إليها ناتج آخر نهائي هو 2,3-butanediol أو Acetoin أو حمض البيوتريك أو كحول البيوتانول أو الأسيتون .

وأن تحويل جزء من البيروفات إلى Acetoin أو 2,3-butanediol كنواتج نهائية متعادلة يقلل بدرجة كبيرة كميات الأحماض المتكونة بالنسبة لتلك التي تنتج في حالة التخمر المختلط . هناك مجموعة من بكتيريا Propionibacterium يمكنها أن تنتج حمض البيروبيونيك نتيجة لتخمر حمض الستريك الذي يتحد مع CO_2 ويتحول إلى حمض بروبيونيك بواسطة إنزيم معين يوجد في بكتيريا حمض البروبيونيك . كما يمكن لحمض البروبيونيك أن يتكون في بعض بكتيريا حمض البروبيونيك على حساب حمض اللاكتيك الذي يمكن أكسدته إلى حمض بيروفيك ، وهذا يتأكسد بدوره في وجود CoA إلى Acety – CoA أو يختزل إلى حمض بروبيونيك :



٣- إنتاج الأسيتالدهيد Production of acetaldhyde

وفى هذه الطريقة يتحول حمض البيروفيك إلى أسـيتالدهيد نتيجـة عملية إزالة ثانى أكسـيد الكربـون Decarboxylation of CO_2 . وهـذه العملية قليلة الأهمية فى البكتيريا ولكنها مهمة فى خلايا الخميرة ، حيـث أن إختزال الأسيتالدهيد إلى كحول إيثانول يعتبر الطريق الوحيد لتكوين كحـول الإيثانول بواسطة خلايا الخميرة . ألا أن هناك بعض الدلائل على أن بعض البكتيريا يمكنها إختزال حمض الخليك إلى كحول إيثانول ، بالرغم من قدرة أكسدة الأسيتالدهيد المتكون بواسطة الخميرة إلى حمض خليك .

٤- التحلل الجليكولى Glycolysis

يعتبر التخمر Fermentation أو التحلل الجليكولى Glycolysis من أهم النظم التى تستخدمها الكائنات الحية الدقيقة لتكسير سـكر الجلوكـوز أو السكريات السداسية المشابهة مع تخليق جزيئات ATP . فمثلاً تقوم الخميرة بتكسير الجلوكوز إلى ثانى أكسيد الكربون والكحول الإيثيلى



$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CO_2 + 2CH_3CH_2OH + Energy$$

بينما يتم تحلل الجلوكوز ببعض أنواع البكتيريا مثل Streptococcus Lactobacillus لتكوين حمض اللاكتيك



$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3CHOHCOOH + Energy$$

ويلاحظ فى المعادلتين السابقتين عدم وضوح كيفية تكوينATP أثنـاء عملية التحلل وتسمى نظم التمثيل الغذائى التى تـتم فيهـا تكـوين المركبـات الفوسفاتية الغنية بالطاقة مثل ATP باسم تفاعلات الهدم Catabolism وقد أطلق هذا الاسم نظراً لهدم أو تكسير الجلوكوز أو السكريات المماثلة لتحويل طاقتهـا الكامنة إلى طاقة صالحة للإستخدام فى صورة مركبات فوسفاتية غنية بالطاقة ثم

نقل هذه الطاقة إلى مركب ADP فيتحول إلى مركب ATP وهو كما سبق القول الناقل للطاقة فى الصورة الصالحة للإستخدام ويتم تحلل الجلوكوز بنظم مختلفة في الكائنات الدقيقة تبعاً لتوفير الإنزيمات اللازمة لكل نظام فى الميكروب إلا أننا سنكتفى بدراسة نظام واحد كمثال لهذه النظم وهو نظام إمبدن مايرهوف Embden-Meyerhof pathway وهو أكثر النظم شيوعاً لتكسير الجلوكوز بالميكروبات ويمكن تلخيص خطوات هذا النظام كالآتى :

وعند دراسة دورة إمبدن مايرهوف يجب ملاحظة النقاط التالية:

١- يتم فسفرة جزئ سكر الجلوكوز على خطوتين باستخدام جزيئين من ATP لإنتاج هكسوز ثنائى الفوسفات Fructose 1-6 diphosphate .

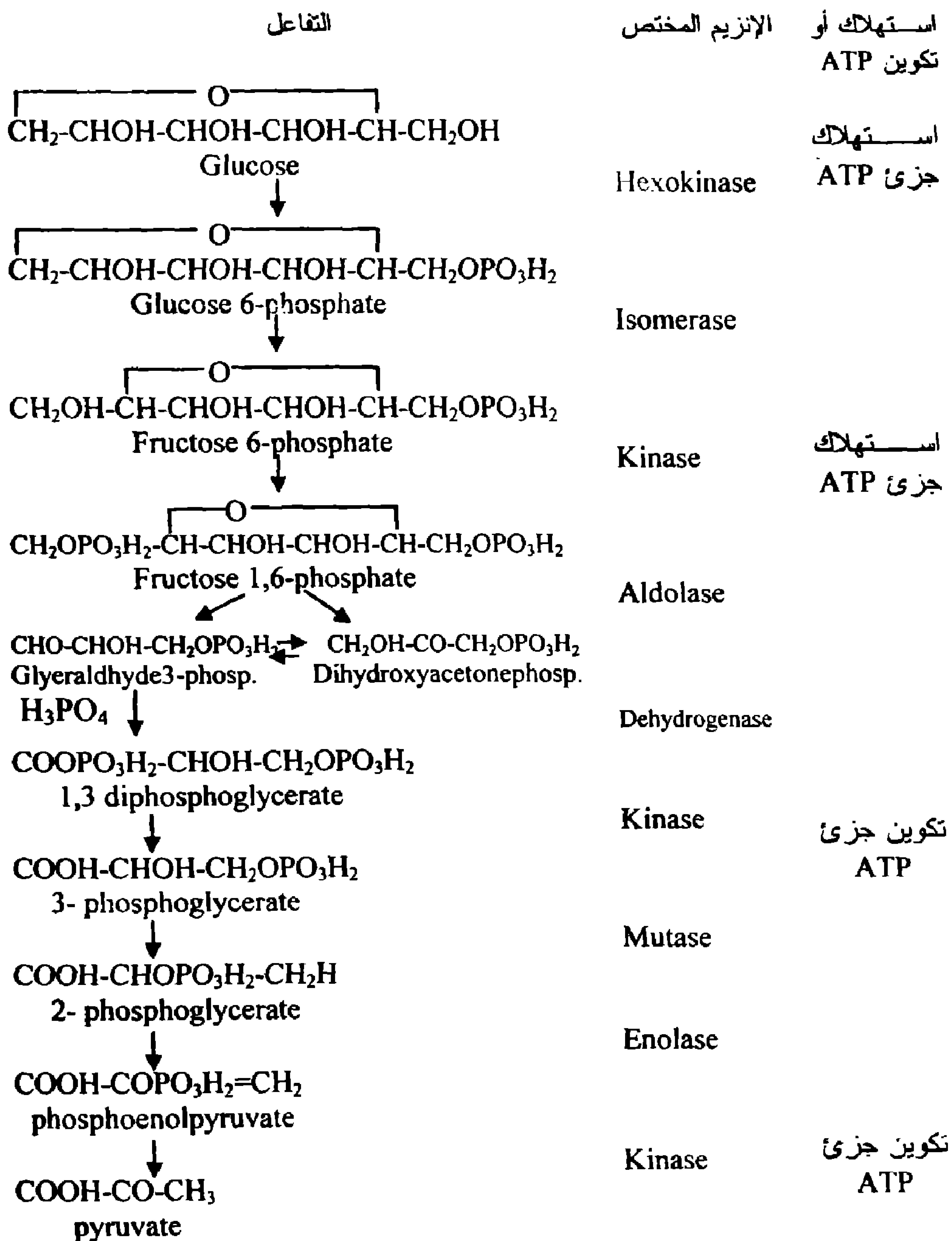
٢- يتم تكسير الفراكتوز ١-٦ داى فوسفات بإنزيم الألدوليز إلى مركبين كل منهما مفسفر وثلاثى ذرات الكربون Triosephosphate .

٣- يتم تمثيل أو إندماج الفوسفات الغير عضوى (Pi) فى المركب ثلاثى الكربون المفسفر لتكون مركب ترايوز ثنائى الفوسفات *Triose–diphosphate* .

٤- يختزل جزيئين من المرافق الإنزيمى NAD إلى NADH لإكتساب أربع ذرات أيدروجين من المركب ثنائى الفوسفات .

٥- يتكون أربع جزيئات من ATP بإمرار الفوسفات من المركب ترايوز ثنائى الفوسفات (٣ ذرات كربون) إلى ADP .

٦- يستخدم مركب NADH المختزل والناتج فى الخطوة الأولى لإختزال حمض البيروفيك إلى حمض لاكتيك أو لإختزال الأسيتالدهيد إلى إيثانول.



دورة التحلل الجليكولى (نظام إمبدن – ماير هوف – بارانس)
Glycolysis cycle (E.M.P. pathway)

وبذا ينتج من تخمر جزئ واحد من الجلوكوز تكون جـزيئين مـن حمض اللاكتيك وأربعة جزيئات من ATP . وإذا أخذنا فى الإعتبار إستخدام جزيئين من ATP لفسفرة الجلوكوز فى بداية الدورة فإن الناتج النهائى هـو إستفادة الخلية لتكوين جزيئين فقط من ATP لكل جزئ من الجلوكـوز يـتم هدمه وبذلك يتضح أن تفاعلات الهدم التى تتم خلال دورة إمبدن مـايرهوف أو الدورات الأخرى التى تستخدمها الميكروبات المختلفة لتكسير الجلوكـوز لها فوائد هامة هى :

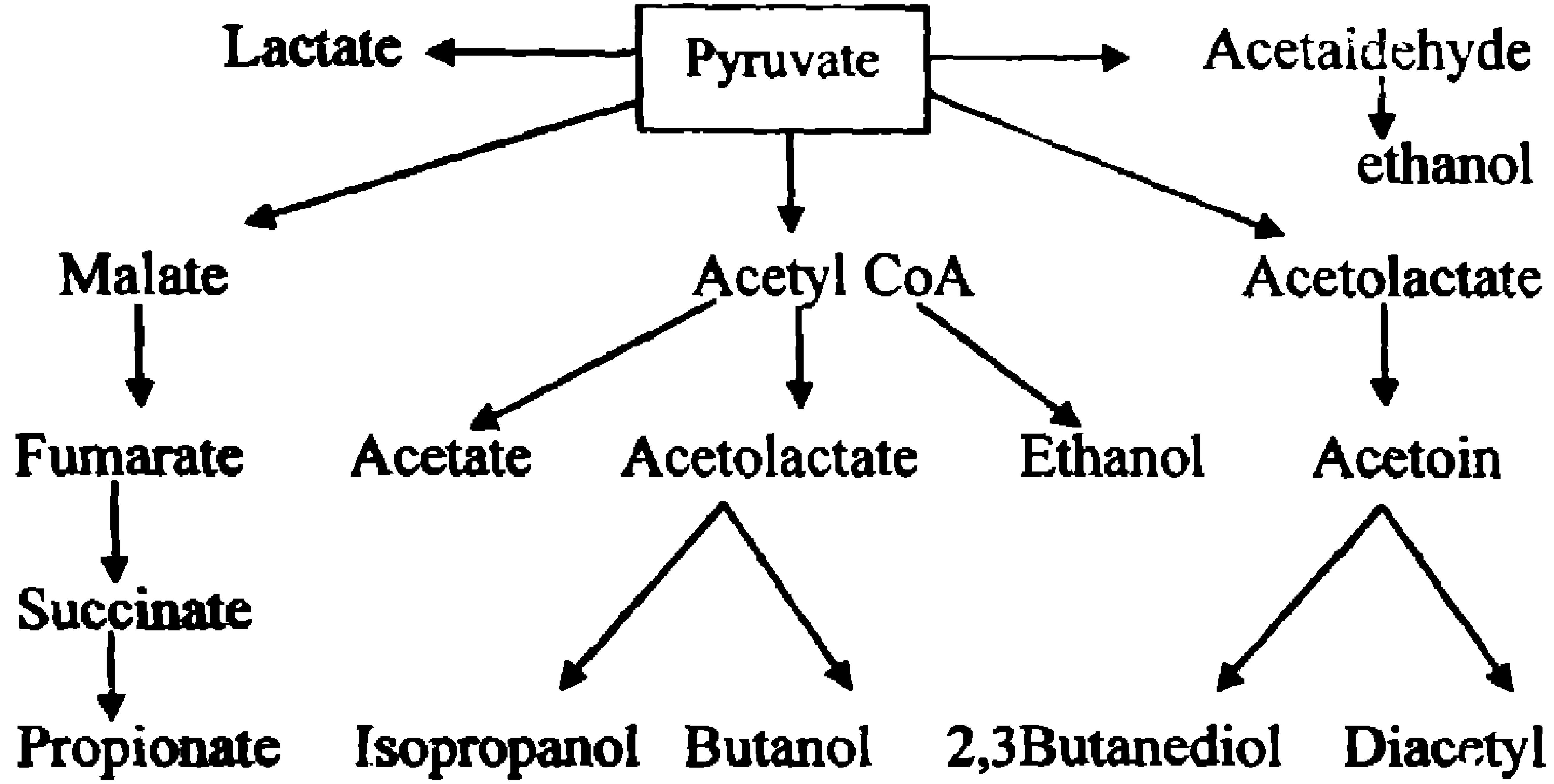
أ- إنتاج الطاقة فى الصورة الصالحة أى فى صورة ATP وهـى الطاقـة اللازمة لدفع تفاعلات البناء الحيوى التى تحتاج للإستهلاك طاقة كبيـرة وأيضاً إستخدام هذه الطاقة فى كافة النشاطات الحيوية الأخرى للميكروب.

ب- إنتاج قوة إختزالية فى صورة NADH أو NADPH لازمة لدفع بعض تفاعلات البناء فى الإتجاه المطلوب .

جـ- تنتج مركبات بسيطة هامة خلال خطوات تكسير الجلوكوز وتعتبر هذه المواد مواداً أولية Precursors لازمة لبدء سلسة تفاعلات البناء .

٥- تخمر حمض البيروفيك Pyruvic acid fermentation

تستخدم الميكروبات نظم عديدة كنظام إمبدن مايرهوف لتكسـير أو تخمير الجلوكوز وتكوين مركب وسطى أساسى هو حمض البيروفيك إلا أن النواتج النهائية لتخمير هذا الحمض تختلف من ميكروب لآخر حسب النظام الإنزيمى الموجود بالميكروب ولذا تستخدم قدرة الميكـروب علـى إنتـاج مركبات مختلفة من تخمر الجلوكوز كوسيلة فعالة فـى تعريـف وتصـنيف الميكروبات . يوضح الشكل التالى أهم أنواع التخمـرات التـى تقـوم بهـا الكائنات الدقيقة .



أيض المركبات النيتروجينية Metabolism of nitrogenous compounds

تقوم الحيوانات بتمثل معظم إحتياجاتها من النيتروجين على صورة مركبات نيتروجينية عضوية Organic nitrogen كالأحماض الأمينية . ويجب أن يحتوى غذاء الحيوان على نحو ١٠ أحماض أمينية لعدم قدرته على تخليقها بنفسه ولذا تسمى الأحماض الأمينية الأساسية Essential amino acids . وعلى عكس ذلك يمثل النبات النيتروجين على صورة أمونيا أو نترات أى يحتاج النيتروجين في صورة مركبات نيتروجينة غير عضوية Inorganic nitrogen ويستخدم النبات الأمونيا ومركبات الكربون الناتجة من تحليل الكربوهيدرات لتخليق كل إحتياجاته من الأحماض الأمينية اللازمة لتخليق البروتين .

أما بالنسبة للكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا والخمائر والفطريات فإنها تختلف كثيراً فى إحتياجاتها الغذائية فبعضها يحتاج توفر بعض الأحماض الأمينية والبيورينات والبريميدينات فى بيئة النمو بينما يستخدم البعض الآخر الأمونيا أو النترات فقط لتخليق كل إحتياجاتها من المركبات

النيتروجينية العضوية ولبعض الكائنات الدقيقة القدرة على تثبيت أزوت الجو في صورة أمونيا يستخدمها الميكروب لتمثيل الأحماض الأمينية التى يمكن إدماجها أو على الأقل نقل مجموعة الأمين بها ($-NH_2$) إلى مركبات عضوية نيتروجينية كالبيورين والبريميدين .

ونتيجة لقدرة هذه الكائنات الدقيقة على تثبيت الأزوت وتمثيل الأمونيا المثبتة فى صورة مكونات خلوية فإن الكائنات الدقيقة تلعب دوراً هاماً فى دورة النيتروجين فى الطبيعة كما أن قدرة الكائنات الدقيقة على تحليل البقايا الميتة والمتحللة تؤدى إلى إعادة النيتروجين مرة أخرى لدورة النيتروجين. ويتم تثبيت الأزوت فى صورة أمونيا بنظام إنزيمى معقد يعرف باسم معقد النيتروجينيز Nitrogenase complex أو إنزيم النيتروجينيز ويحتاج تثبيت الأزوت إلى أستهلاك كمية طاقة كبيرة فى صورة جزيئات ATP وإلكترونات محمولة بمرافق إنزيمى يعرف باسم الفيرودوكسين Ferredoxins إذ أنه من المرافقات الإنزيمية المعروفة فى تفاعلات الأكسدة والإختزال التى لها القدرة على العمل فى جهد أكسدة وإختزال منخفض جداً .

١ - تمثيل الأمونيا Ammonia assimilation

بمجرد تكون الأمونيا بنظام النيتروجينيز فى الميكروبات المثبتة للأزوت أو إمداد الميكروبات غير المثبتة للأزوت بالأمونيا فى بيئة النمو فإنه يلزم تمثيل الأمونيا إلى مركبات عضوية كالأحماض الأمينية . وعلى الرغم من وجود ٢٠ حمضاً أمينياً أو أكثر فى جزئ البروتين إلا أن عدداً قليلاً من الأحماض الأمينية يمكن تخليقها مباشراً من الأمونيا مثل تحويل أحماض كيتونية معينة إلى أحماض أمينية بإضافة الأمونيا وعند وجود الإنزيم المناسب مثل تكون حمض جلوتاميك مباشرة نتيجة تمثيل الأمونيا .

٢- تفاعلات الأحماض الأمينية Reactions of amino acids

تتعرض الأحماض الأمينية لسلسة من التفاعلات الإنزيمية في الميكروبات ويلعب المرافق الإنزيمي البيريدوكسين Pyridoxine دوراً أساسياً فيها . ويمكن تلخيص أهم تفاعلات الأحماض الأمينية فى الجدول التالى:

نوع التفاعل		الإنزيم المتخصص	المجموعة المزالة أو المنقولة
إزالة مجموعة الكربوكسيل	Decarboxylation	Decarboxylases	- COOH
إزالة مجموعة الأمين	Deamination	Deaminases	- NH_2
إزالة مجموعة السلفاهيدريل	Desulfuration	Desulfurases	- $SHNH_2$
نقل مجموعة الأمين	Transamination	Transaminases	- NH_2
تكوين المشابهات	Racemization	Racemases	- H

وهذه التفاعلات هى تفاعلات هدم من الدرجة الأولى إلا أن بعضها يلعب دوراً هاماً فى عمليات البناء .

٣- تخليق الأحماض الأمينية Biosynthesis of amino acids

عند دراسة طرق تخليق الأحماض الأمينية يتم تقسيمها عادة إلى خمس مجموعات تسمى كل مجموعة منها باسم عائلة Family وفى كل عائلة يتم تكوين حمض أمينى أساسي من الهيكل الكربونى المناسب له Precursor ويلى ذلك تخليق باقى أحماض العائلة وعادة ما تعرف العائلة باسم هذا الحمض الأمينى الأساسي وهذه العائلات هى عائلة حمض الجلوتاميك ، والبيروفيك ، والأسبارتيك ، وحمض السيرين والجليسين ، عائلة الأحماض الأمينية الحلقية .

٤- تخليق البروتين Protein Biosynthesis

يتكون جزئ البروتين من إتحاد مئات من جزيئات الأحماض الأمينية بروابط ببتيدية وبتسلسل معين فى كل مرة يتم فيهــا تكــوين نفــس جــزئ البروتين . ومن هذا يتضح أن تخليق البروتين يتطلب وجود نظــام شــفرة معين Coding system ينظم أوتوماتيكيا دخول كل حمض أمينى فى تسلسله المعين عند تخليق جزئ البرويتن .

٥- هدم البروتين

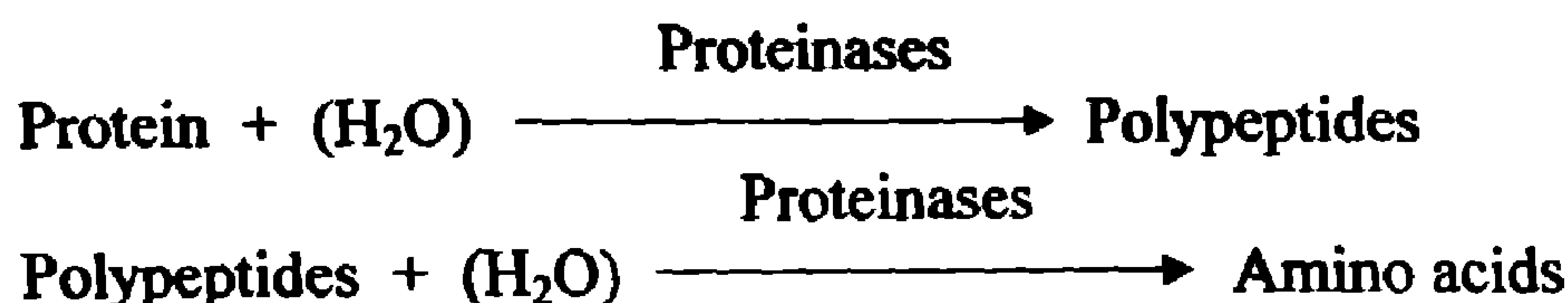
لا تستطيع الخلية البكتيرية الإستفادة مباشرة من جزئ البروتين نظراً لكبر وزنه الجزيئى ولذا تفــرز عليــه الإنزيمــات المحللــة للبروتينــات Proteolytic enzymes التى تكسر الرابط الببتيدية التى تــربط الأحمــاض الأمينية ببعضها فى جزئ البروتين على النحو التالى :

بروتين – بروتيوز – ببتون – ببتيدات عديدة – ببتيدات ثنائية – أحماض أمينية

وعادة تقسم الإنزيمات المحللة للمواد البروتينية إلى قسمسن رئيسين exopeptidases وهى الإنزيمات التى تكسر الروابط الببتيدية الطرفية فــى الجزئ وإنزيمات Endopeptideases التى تكسر الروابط الببتيدية الداخليــة وتلعب إنزيمات القسم الأخير الدور الأساسى فى تكسير جزئ البروتين .

وكثير من الميكروبات لها القدرة على تكسير الأحمــاض الأمينيــة الناشئة من تكسير جزئ البروتين بطرق عديدة . ونظراً لأن جزئ البروتين كبير الحجم فلا ينفذ داخل الخلية البكتيرية ولا يمكن الإستفادة منــه كمــادة غذائية . لذلك يجب أن يتحلل أولاً إلى مركبات أصغر حجمــا ولن عمليــة تحليل البروتين يطلق عليهــا Proteolysis أى التحلــل المــائى للبــروتين ويصاحب ذلك إفراز إنزيمــات تفــرز خــارج الخليــة تحلــل البــروتين Extracellular proteolytic enzymes وليست كل البكتيريا قــادرة علــى

إفراز هذه الإنزيمات . ومن بين هذه البكتيريا بعض أنواع تابعة للأجناس Clostridium و Proteus و Pseudomonas و Bacillus . ويعتقد أن عملية تحلل البروتينات تتم كالآتي :

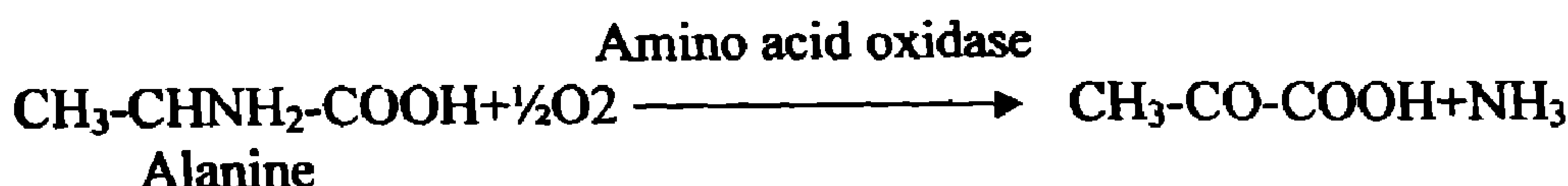


$$\text{Protein} + (H_2O) \xrightarrow{\text{Proteinases}} \text{Polypeptides}$$

$$\text{Polypeptides} + (H_2O) \xrightarrow{\text{Proteinases}} \text{Amino acids}$$

والنتيجة النهائية للنشاط المحلل للبروتين هو إنتاج الأحماض الأمينية وهذه الأحماض الأمينية تستطيع أن تدخل الخلية البكتيرية ، وقد يحدث لها خطوات هدم أخرى مثل :

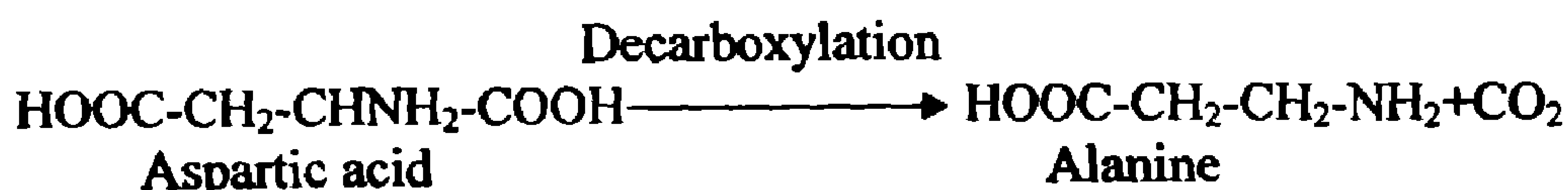
١- إزالة مجموعة الأمين Deamination



$$\underset{\text{Alanine}}{CH_3\text{-}CHNH_2\text{-}COOH} + \tfrac{1}{2}O2 \xrightarrow{\text{Amino acid oxidase}} CH_3\text{-}CO\text{-}COOH + NH_3$$

وتعتبر عملية أكسدة Oxidative deamination

٢- إزالة مجموعة الكربوكسيل Decarboxylation

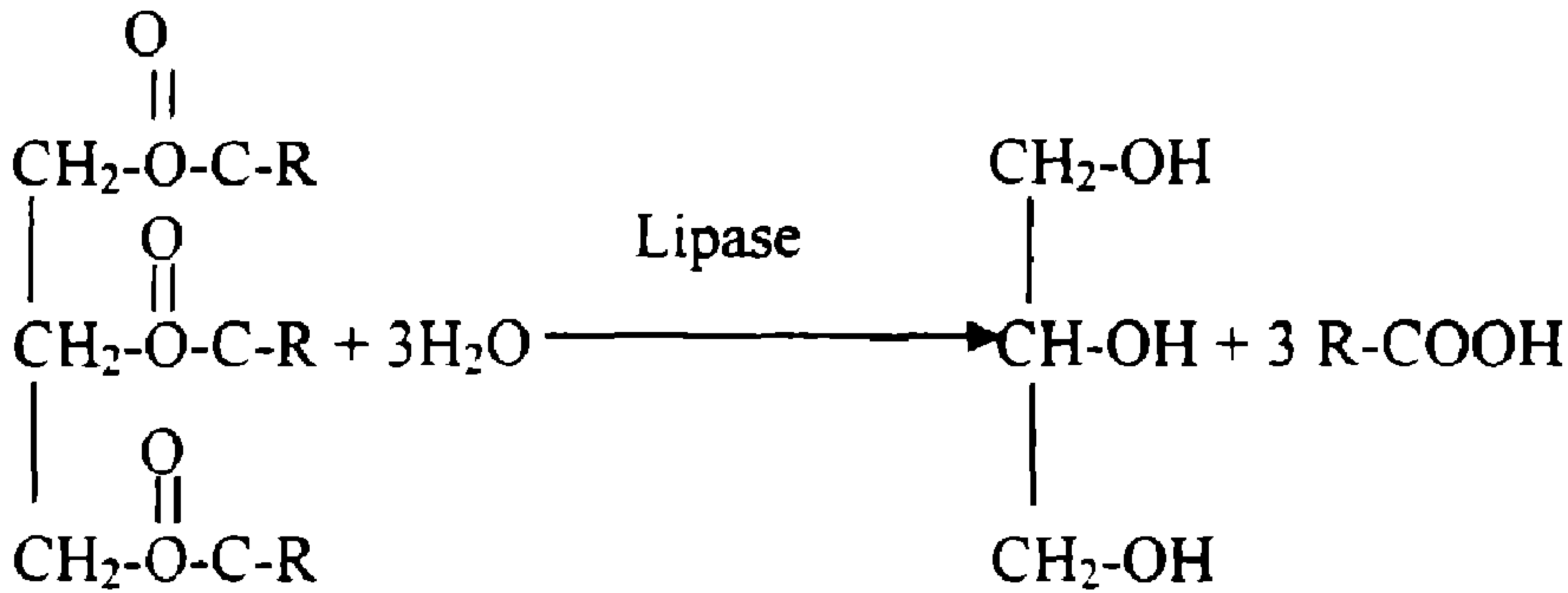


$$\underset{\text{Aspartic acid}}{HOOC\text{-}CH_2\text{-}CHNH_2\text{-}COOH} \xrightarrow{\text{Decarboxylation}} \underset{\text{Alanine}}{HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH_2 + CO_2}$$

وأن النواتج النهائية لهدم الأحماض الأمينية ليس من الضروري أن تكون إزالة مجموعة الأمين أو مجموعة الكربوكسيل ، كما في حالة بكتيريا *E. coli* حيث يحدث هدم للحمض الأميني تريبتوفان ويتكون الأندول وحمض البيروفيك والأمونيا .

أيض الدهون Metabolism of fats

يمكن لبعض البكتيريا أن تحلل الجلسريدات إلى جليسيرول وأحماض دهنية وتسمى العملية Lipolysis وذلك بإفراز إنزيمات Lipase



وبذلك يتحلل الدهن إلى جليسيرول وأحماض دهنيــة . ويلاحــظ أن الجليسرول والأحماض الدهنية قد يحدث لها خطوات هدم أخرى أو تستعمل فى بناء دهون جديدة . وتتلخص أهمية الهدم فى إمداد الكائن بالطاقة اللازمة للعمليات الحيوية ، تكوين مواد هامة تستعمل فى عمليات بناء مواد خلوية . هذا علاوة على أن البناء يشمل عمليات كثيــرة مثــل بنــاء البروتــوبلازم وإنزيمات والجدر الخلوية . وتبنى مواد تفرز خارج الخلية مثل المضــادات الحيوية وعديدات التسكر والصبغات .. ألخ .

ثانيا : الإنزيمات البكتيرية Bacterial enzymes

تعتبر الخلية البكتيرية كأى خلية حية لابد لها لكــى تقــوم بنشــاطه وتفاعلاتها الحيوية من القيام بإحداث تغيرات فى المركبات التى تتناولها كغذاء أو كمصدر للطاقة وتتم هذه التغيرات والتفاعلات بمســاعدة عوامــل حيويــة خاصة تتمير بها الخلايا تسمى الإنزيمات Enzymes . وتعــرف الإنزيمــات بأنها مركبات عضوية معقدة تفرزها الخلايا الحيــة لهــا خاصــية إســراع التفاعلات الكيميائية بدون أن تستهلك أثناء التفاعل وتخرج من التفاعل بحالتها

الطبيعية لتستطيع أن تقوم بنفس التفاعل مرة أخرى وبنفس الكفاءة . لذلك يلزم كمية ضئيلة جداً من الإنزيمات لإحداث التفاعل بكميات مناسبة من المادة الداخلة في التفاعل . وعلى الرغم من أن البكتيريا تنتج عدداً كبيراً جداً من الإنزيمات إلا أن كل نوع من البكتيريا ينتج أنواعاً معينة من الإنزيمات مميزة له وكذا فإن الكميات التى تكونها البكتيريا تختلف من نوع لآخر .

أنواع الإنزيمات :

وتقسم الإنزيمات البكتيرية على أساس إفرازها فى وجود أو غياب مادة التفاعل Substrate إلى إنزيمات بنائية أساسية Constitutive enzymes وهى الإنزيمات التى تفرزها الخلايا البكتيرية فى وجود أو غياب مادة التفاعل ويتحكم فى إنتاج هذا النوع من الإنزيمات التركيب الوراثى للبكتيريا . إنزيمات تنتج بالحث Inducible (Adaptive) enzymes وهى الإنزيمات التى تفرزها البكتيريا فى وجود مادة التفاعل فقط ويتحكم فى إنتاجها عوامل أربعة هى التركيب الوراثى لسلالة البكتيريا ، وجود مادة التفاعل ، توفير الأحماض الأمينية اللازمة لتكوين بروتين الإنزيم المطلوب إفرازه ، علاوة على مصدر الطاقة الملائم لتخليق الإنزيم.

ويلاحظ أن الخلية البكتيرية تحصل على غذائها بالإنتشار الغشائى لذلك فلابد أن تكون المواد الغذائية على صورة ذائبة لكى تتمكن من المرور إلى داخل الخلية وحيث أن كثيراً من المواد الغذائية للبكتيريا توجد على حالة غير ذائبة أو على صورة جزيئات كبيرة معقدة لا يمكنها النفاذ خلال الغشاء السيتوبلازمى للخلايا لذلك فإن الخلية البكتيرية تفرز نوعين من الإنزيمات .

١- إنزيمات خارجية Extracellular enzymes وهى الإنزيمات التى تفرزها الخلايا فى الوسط الخارجى أو البيئة التى تنمو فيها . وتؤثر هذه الإنزيمات على المواد الغذائية المعقدة حيث تقوم بتكسيرها وتحويلها إلى

مواد بسيطة ليسهل دخولها إلى الخلية مثل الإنزيمات المحللة للنشا والبروتين والسليولوز . وقد تستخدم مثل هذه الإنزيمات في تكسير المواد الضارة والسامة إلى مواد أقل ضرراً أو إلى مواد غير ضارة .

٢- إنزيمات داخلية Intracellular enzymes وهى الإنزيمات التى تفرزها الخلية البكتيرية داخل الخلية نفسها للقيام بعمليات التحولات الغذائية المختلفة وذلك للحصول على الطاقة اللازمة للحركة والتكاثر وبناء خلايا جديدة .

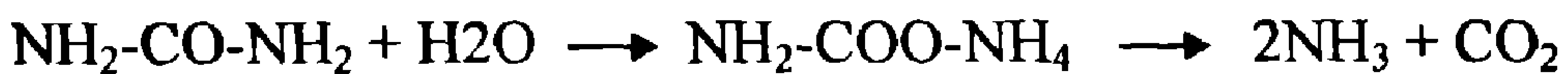
العوامل التى تتحكم فى تخليق الإنزيمات البكتيرية

هناك عوامل وراثية تتحكم في إنتاج الإنزيمات وتحتوى الخلية الميكروبية على نظم التحكم بداخلها بعكس الأنسجة الأخرى للخلايا الراقية حيث توجد نظم التحكم خارج الخلية ، وتعتبر نظم الحث Induction والتثبيط Repression من العوامل المتحكمة فى تكوين ونشاط الإنزيمات . على سبيل المثال نجد أن ميكروب *E. coli* لا ينتج إنزيم β-galactosidase الذى يقوم بتكسير اللاكتوز إلى جلوكوز وجلاكتوز . ولكن إذا نما ميكروب *E. coli* فى بيئة يكون مصدر الكربون الوحيد فيها هو اللاكتوز والذى يعتبر كمادة حاثة على تكوين ونشاط الإنزيم ، حيث تقوم بعض المركبات بحث منطقة معينة فى كروموزم الخلية البكتيرية ويبدأ جزئ DNA فى إعطاء إشارة لتخليق الإنزيم الخاص المراد تكوينه . وقد يحدث التحكم بطريقة مباشرة ويتم ذلك نتيجة ظروف التفاعل الإنزيمى خارج الخلية فكما هو معروف فإن زيادة تركيز مادة التفاعل يزيد من سرعة التفاعل إلى أن تصل إلى حد معين وعلى العكس فإن الزيادة فى ناتج التفاعل عن حد معين وهو الذى يسمح به ثابت الإتزان للتفاعل فإنه يؤدى إلى التقليل من سرعة التفاعل أو قد يمنع الناتج النهائى كلية .

هناك بعض من الإنزيمات الأقل فى التخصص والتى قد ترتبط مع مجموعة واسعة من مواد التفاعل . ويتحكم فى ذلك الروابط الكيميائية المتخصصة والموجودة على مادة التفاعل والمسئولة عن الإتحاد مع الإنزيم فى مواقع الربط . كذلك يعتقد أن مجموعة الفوسفور (P^-) والسلفاهيدريل (SH^-) تعتبر من المجاميع التى لها دوراً مساعداً على مواقع Catalytic sites . هذا ويجب عند دراسة الإنزيمات وعند قياس نشاطها لابد من معرفة طبيعة التفاعل الإنزيمي ، وجود مرافقات إنزيمية أو عوامل مساعدة ، الظروف البيئية المناسبة للتفاعل الإنزيمى . وكذلك طريقة القياس المثلى للنشاط وهى تكون طريقة بسيطة لتقدير واختفاء مادة التفاعل الإنزيمى أو قياس تكون ناتج التفاعل النهائى كوسيلة لقياس النشاط الإنزيمى .

طبيعة الإنزيم Nature of enzyme

تعتبر الإنزيمات مركبات بروتينية ذات وزن جزيئى مرتفع جداً وعلى ذلك فإن لها خواص البروتينات فهى تكون محلولاً غروياً ولا تنفذ خلال الأغشية شبه المنفذة ولها خواص أمفوتيرية ويمكن ترسيبها من محاليلها بنفس الطرق التى يترسب بها البروتينات . تتميز الإنزيمات بأنها متخصصة فى التفاعلات التى تنشطها وذلك على خلاف كثير من المواد المنشطة المعدنية ومعنى هذا أن لكل إنزيم تفاعل معين ينشطه ، ولا يستطيع أن يقوم بالتفاعل مع مواد أخرى خلاف مادة التفاعل الخاصة به . ويعزى تخصص الإنزيمات إلى طبيعة بروتين الإنزيم . وهذا التخصص إما أن يكون تخصص مطلق Absolute specificity بمعنى أن الإنزيم متخصص لمادة واحدة فقط مثل إنزيم اليورياز Urease فإنه يقوم بتحليل اليوريا فقط والذى يتم كما فى التفاعل الآتى :



$$NH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 + H2O \longrightarrow NH_2\text{-}COO\text{-}NH_4 \longrightarrow 2NH_3 + CO_2$$

وقد يكون تخصص الإنزيم لمجموعة معينة Group specificity وفي هذه الحالة فإن التخصص للإنزيم يكون أوسع من السابق حيث تكون إنزيمات متخصصة لمجموعة معينة مثل Lipases فهي متخصصة للدهون ولكنها غير قادرة على تحليل الكربوهيدرات مثلا . ويوجد أيضاً تخصص لنوع الرابطة الكيماوية Stereochemical specificity كما يوجد في إنزيم المالتيز Maltase المتخصص في تحليل المواد الكربوهيدراتية التي توجد بينها روابط جليكوزيدية من النوع ألفا α-glucosides ولكنها لا تؤثر على الروابط الجليكوزيدية التي من النوع بيتا β-glucosides . أما في حالة تخصص الكفاءة النسبية Relative efficiency فإن الإنزيم يكون أكثر كفاءة في تحليل نوع من الروابط عن النوع الآخر مثل إنزيم β-glucosidase الذي يحلل الروابط التي من النوع بيتا أسرع من الروابط الجليكوزيدية الأخرى في جزئ الكربوهيدرات .

كذلك تتأثر الإنزيمات بالحرارة بدرجة كبيرة مثلها في ذلك مثل البروتينات . وتؤدي الحرارة المرتفعة (٥٥-٦٠°) إلى تثبيط نشاط الإنزيم ماعدا الإنزيمات المتحملة للحرارة العالية Thermostable enzymes التي تستطيع تحقيق نشاط ملموس في درجات الحرارة العالية التي قد تصل إلى ٦٥-٧٠°م . وهذه الإنزيمات قد تنتج بواسطة ميكروبات محبة للحرارة العالية Thermophiles أو ميكروبات تعيش في درجات الحرارة المتوسطة Mesophiles .

ولقد بينت الدراسات أن الإنزيم الكامل Halo-enzyme يتركب من جزئين هما Apoenzyme وهو عبارة عن جزء بروتيني وله وزن جزيئي كبير ويختلف تركيبه من إنزيم إلى أخر وإليه يرجع تخصص الإنزيم وهو سريع التأثر بالحرارة . أما الجزء الثاني فهو المرافق الإنزيمي Coenzyme

وهو الجزء الذى لابد من إتحاده بالإنزيم لكى يصبح الإنزيم نشطاً وهو أمـا أن يكون فيتامين معين أو مجرد أيون معدنى وفـى هـذه الحالـة يسـمى Activator أو منشط . ولكل إنزيم مرافق إنزيمى معين لا يستطيع إستبداله بغيره . والمرافق الإنزيمى عند مقارنته بالـApoenzyme ، نجد أنه غيـر بروتينى ووزنه الجزيئى أقل ، وأكثر مقاومة للحرارة ، وغير متخصـص . ويجب الإشارة إلى أن بعض الإنزيمات لا تحتاج لمرافـق إنزيمـى للقيـام بنشاطها أى أن الإنزيم فى هذه الحالة يتكون من بروتين فقط .

ويمكن توضيح وتبسيط ميكانيكية عمل الإنزيم بأن التفاعل يتم بـين الإنزيم الكامل Haloenzyme وبين مادة التفاعل Substrate وهذا الإتحـاد يكون عن طريق جزء معين من الإنزيم يسمى مركز نشاط الإنزيم Active center وهذا الجزء يكون مهيئاً لإستقبال مادة معينة من المواد فقط ومن هنا يتضح تخصص الإنزيمات . وبعد إتحاد الإنزيم مع مادة التفاعـل وإنتهـاء التفاعل ينفصل عن الإنزيم نواتج التفاعل ويظل الإنزيم بحالته الأصلية دون أن تعتريه أى تغير . هذا ولم يتم حتى الآن تحديد هل إتحاد الإنزيم مع مادة التفاعل إتحاد طبيعى أم كيماوى .

ويمكن الكشف عن النشاط الإنزيمى بمدى إختفاء مادة التفاعـل . أو بقياس ناتج التفاعل . ويقدر النشاط الإنزيمى عادة بمدى مساهمة الإنزيم فى التفاعلات المختلفة وهذا النشاط عادة ما يقاس بوحدات النشـاط Units of activity وتعرف هذه الوحدة بأنها كمية الإنزيم التى تعمل على تحويل وحدة من مادة التفاعل فى وحدة الزمن تحت الظروف القياسية . وهـذه الوحـدة عالمية وتستخدم لمقارنة النشاط الإنزيمى .

وهناك ما يسمى بالنشاط النوعى Specific activity وهو مقياس له أهمية كبيرة ويستعمل للدلالة على نقاوة الإنزيم وهو ناتج من قسمة النشـاط

الإنزيمى المقدر بالوحدات على كمية الإنزيم أو البروتين الإنزيمى المستخدم وهو هام جداً عند مقارنة نقاوة الإنزيمات المختلفة . وعادة ما ينتهى اسم الإنزيم بالمقطع ase الذى يضاف إلى اسم مادة التفاعل وتسمى الإنزيمات أيضا تبعاً لطبيعة التفاعلات الكيماوية التى تساعد فيها . وهناك إنزيمات تسمى تبعا لمادة التفاعل التى تعمل عليها بدون إضافة ase مثل الببسين والتربسين وغيرها من الإنزيمات .

العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

توجد عدة عوامل تؤثر على كفاءة التفاعلات الإنزيمية وأهمها ما يلى :

١- الرقم الأيدروجينى pH لكل إنزيم رقم أيدروجينى أمثل Optimum يكون عنده التفاعل أقصاه ورقم أيدروجينى أدنى Minimum لا يحدث التفاعل عند درجة أقل منه ورقم أقصى Maximum لا يحدث التفاعل إذا إرتفع الرقم الأيدروجينى عنه .

٢- درجة الحرارة Temperature يزداد معدل التفاعل الإنزيمى تدريجياً برفع درجة الحرارة حتى تصل إلى درجة معينة يكون عندها النشاط الإنزيمى فى أقصاه وهى الدرجة المثلى Optimum temperature . هذا ويزيد معدل التفاعل الإنزيمى بزيادة درجة الحرارة إلى حد معين ثم يقل بعد ذلك نتيجة حدوث عملية الدنترة Enzyme`s denaturation . وعملية الدنترة فى البروتين تشمل كسر روابط هيدروجينية وأخرى روابط غير تساهمية ومن أمثلة ذلك ما يحدث لألبيومين البيض عند التعرض للحرارة والتحول إلى صورة أخرى . ويمكن أن تحدث الدنترة نتيجة مؤثرات كيماوية مثل الأحماض المركزة والقواعد والمعادن الثقيلة والكحولات والأشعة فوق البنفسجية . وإذا رفعت الحرارة عن هذه الدرجة يحدث

تناقص ملموس فى النشاط الإنزيمى حتى يتوقف التفاعل ويرجع ذلك لتأثير الجزء البروتينى للإنزيم بالحرارة .

٣- تركيز الإنزيم Enzyme concentration كلما زاد تركيز الإنزيم كلما كان النشاط أعلى حتى يصل إلى درجة تركيز معينة لا يصبح لزيادة التركيز بعدها أى تأثير على زيادة نشاط التفاعل الإنزيمى .

٤- تركيز مادة التفاعل Substrate concentration كلما زاد تركيز مادة التفاعل كلما زاد النشاط الإنزيمى إلى حد معين وبعدها يتوقف هذا التأثير. يزيد معدل التفاعل بزيادة مادة التفاعل إلى حد معين ثم يثبت وذلك للوصول إلى حالة التشبع الإنزيمى أو إلى إشغال المواقع النشطة بمواد التفاعل أو ناتج التفاعل قبل إنفصالها . وتحت هذه الظروف فإن الزيادة فى تركيز مادة التفاعل لا تؤثر على معدل التفاعل بالزيادة ألا إذا أضيف المزيد من تركيز الإنزيم .

٥- المثبطات Inhibitors تعتبر دراسة المثبطات الإنزيمية من الطرق الفعالة للتحكم فى نمو البكتيريا وذلك بالتحكم فى معدل التفاعلات الإنزيمية . فهناك من المثبطات مثل السيانيد والسليمانى التى تتحد مع الإنزيم لمنع إتمام التفاعلات وبالتالى لوقف النمو الميكروبى . وتقسم هذه المثبطات حسب تفاعلها إلى مثبطات تنافسية Competative inhibitors ومثبطات لا تنافسية Non competative inhibitors حيث يتنافس النوع الأول مع مادة التفاعل على الإرتباط بالمواقع النشطة على الإنزيم حيث أنه يشبه مادة التفاعل الأصلية وعند إتحاده مع المواقع النشطة على الإنزيم لا ينفصل بعد ذلك إلى إنزيم حر والمواد الناتجة Products . وبعضها تتحد عكسياً مع الأحماض الأمينية على المواقع النشطة مما يتيح الفرصة لحدوث تفاعل لآخر إن وجد .

ومن أمثلة المثبطات التنافسية مركب السلفانيل أميد Sulfanil amide وهو من أدوية السلفا حيث يثبط الإنزيم الذى يتفاعل مع مادة تفاعل .

وهو من الأغذية المناسبة للبكتيريا والتى يستخدمها البكتيريا لتخليق حمض الفوليك وهو الفيتامين الذى يعمل كمرافق إنزيمى . وعند تواجد السلفا أميد فإن الإنزيم الذى يتحد مع حمض البارامينو بنزويك (PABA) لتكوين حمض الفوليك يتحد بدلاً منه مع السلفانيل أميد وبالتالى لا يخلق حمض الفوليك. ونظراً لأن الخلية الآدمية لا تحتاج إلى PABA لتخليق حمض الفوليك فإن المعاملة بأدوية السلفا (السلفانيل أميد) يقتل البكتيريا ولا تؤثر على الخلية الآدمية.

أما المثبطات اللاتنافسية فلا تتنافس مع مادة التفاعل على الجزء أو الموقع النشط ولكنها تعمل على جزء آخر من الإنزيم ولذلك تسمى Allosteric inhibition حيث ترتبط مع مادة التفاعل مما يسبب تغير فى شكل المواقع النشطة وتصبح غير فعالة وبالتالى يقل النشاط الإنزيمى . وهذا التأثير قد يكون عكسى أو غير عكسى . ومن أمثلة المثبطات اللاتنافسية التى تثبط الإنزيمات التى تحتاج فى نشاطها إلى أيونات معدنية حيث ترتبط المثبطات اللاتنافسية مع هذه الأيونات المعدنية وبالتالى تمنع التفاعل الإنزيمى . ومن أمثلة ذلك السيانيد الذى يتحد مع الحديد الموجود فى هيموجلوبين الدم ويمنعه من حمل الأكسجين مسبباً الإختناق Suffocation .

وقد تعمل المثبطات اللاتنافسية كمواد منظمة للتفاعل فيطلق عليها اسم Feedback inhibition "end product inhibition" . وعملية التنظيم هذه تمنع تكوين مواد حيث يقوم الناتج النهائى بتثبيط خطوة من خطوات التفاعل . مثال ذلك ما يحدث بميكروب *E. coli* حيث إنتاج حمض Isoleucine من الحمض الأمينى Threonine تحتاج خمس خطوات فى كل خطوة يساعد فى

التفاعل إنزيم معين . فعند إضافة الحمض الأميني الأيزوليوسين إلى بيئة النمو فإن الإنزيم الأول في سلسلة تحويل الثريونين إلى الأيزوليوسين يحدث له تثبيت حتى يستهلك الحمض الأخير في النمو فيعود الميكروب إلى إنتاجه مرة أخرى . وهذه العملية هي وسيلة للتحكم في تنظيم إنتاج الأحماض الأمينية والفيتامينات والقواعد النيتروجينية . ويختلف الإنزيمات بدرجة تأثرها بالظروف البيئية باختلاف درجات حموضة الوسط ومن المعروف أن الإنزيمات اللازمة في عمليات البناء تنتج بغض النظر عن تركيبها أما الإنزيمات المنشطة فإنها تنتج كاستجابة لتأثير المواد المنشطة.

تقسيم الإنزيمات :

تقسم الإنزيمات حسب فعلها المساعد إلى ستة مجاميع وفي كل مجموعة تبعاً للتفاعلات المتخصصة كالآتي :

١- إنزيمات الأكسدة والأختزال Oxidoreductases

وهي تشمل تفاعلات الأكسدة والأختزال وخلال تفاعلات الأكسدة فإن مادة التفاعل تفقد هيدروجين وهناك مادة تفاعل أخرى تكتسب أكسجين . وهذه المجموعة من الإنزيمات تحتاج إلى جزئ غير مرتبط ليرتبط بالجزء البروتيني حتى تصبح في صورة نشطة مثل إنزيم Dehydrogenase وخلال هذه التفاعلات يتم إكتساب أو فقد أكسجين أو إكتساب أو فقد أيدروجين أو إكتساب أو فقد ألكترونات .

٢- إنزيمات النقل Transferase

وهي تقسم داخلياً حسب مكان المجموعة المنقولة وهي الإنزيمات التي تقوم بنقل Transfer of functional groups مثل إنزيمات Deaminase ، Decarboxylase .

٣- إنزيمات التحلل المائى Hydrolytic enzymes

وهى مجموعة من الإنزيمات تستعمل جزئ ماء فى عملها حيث يدخل فى عملية التحليل وهى مجموعة من الإنزيمات الهامة فى عملية الهضم مثل إنزيمات الأميليز والبروتييز والسليوليزات .

٤- إنزيمات Lyases

تقوم هذه المجموعة بفصل مجاميع C-C ، C-N ، C-O

٥- إنزيمات المتشابهات Isomerases

وهى تساعد فى تفاعلات تحول المركبات إلى متشابهات مثل إنزيم Xylose isomerse وتسمى تفاعلاتها Isomerization .

٦- إنزيمات Ligases

حيث يتحد الكربون مع كربون فى مركب أو أكسجين أو نيتروجين أو كبريت ومن أمثلة هذه المجموعة Glutathione synthase وهى مجموعة من الإنزيمات الهامة فى عمليات البناء . كذلك تقوم هذه المجموعة الإنزيمية بربط جزيئين أثناء عمليات التخليق مع إنشطار فى إحدى الروابط الغنية بالطاقة مثل ATP .

التطبيقات العملية للإنزيمات الميكروبية

تستعمل الإنزيمات فى كثير من الصناعات الهامة وكذلك فى كثير من الأغراض الطبية وتجدر الإشارة إلى أن معظم الإنزيمات ذات التطبيق العملى هى من إنزيمات التحلل المائى . وتفضل الكائنات الحية الدقيقة خاصة البكتيريا والفطر فى إنتاج الإنزيمات على النطاق التجارى نظراً لسهولة إستخلاص الإنزيمات الميكروبية الخارجية ، إنخفاض تكاليف الإنتاج نظراً لإستخدام مواد رخيصة الثمن فى الإنتاج . هذا علاوة على أن الكائنات الحية الدقيقة تتميز بإفرازها لعدد كبير جداً من الإنزيمات يغطى أغلب المتطلبات

الصناعية والطبية . هذا بجانب إمكان إنتاج عدد كبير من الإنزيمات اللازمة لغرض معين Enzymatic system ومن نوع واحد من الخلايا البكتيرية بدلاً من إنتاجها من مصادر أخرى . وتستخدم الإنزيمات الميكروبية فى المجـال الصناعى فى أغراض كثيرة منها صناعة الجلـود والجـبن وكثيـر مـن الصناعات الغذائية مثل الإنزيمات المحللة للبروتين مثل البروتينيـز. كمـا تستخدم الإنزيمات فى صناعة النسيج وزيادة حلاوة الأغذية النشوية وترويق عصير الفاكهة والنبيذ (الإنزيمات المحللة للمواد الكربوهيدراتية مثل الأميليز البكتيرى والفطرى) كما يستخدم إنزيم جلوكوز أوكسيديز Glucose oxidase فى إنتاج حامض الجلوكورونيك من سكر الجلوكوز وفى معاملـة مسـحوق البيض المجفف لمنع فساده . كذلك تستخدم الإنزيمات الميكروبية فى المجال الطبى فى صناعة الأقراص الهاضمة المحتويـة علـى إنزيمـات محللـة للكربوهيدرات والدهون والبروتينات كما إستخدمت حديثاً فى إزالة التشوهات الناتجة عن الحروق وتجدر الإشارة إلى أن الإنزيمات الميكروبية تسـتخدم على نطاق واسع فى معامل التحليل الطبى البكتريولـوجى للمسـاعدة فـى تشخيص كثير من الأمراض كإستخدام إنزيم الجلوكوز أوكسيديز فى تقـدير نسبة الجلوكوز فى بول مرضى السكر .

الفصل التاسع :
عوامل البيئة والخلية البكتيرية

عوامل البيئة والخلية البكتيرية

Environmental factors and bacterial cell

تعتبر البكتيريا ككل الأحياء الأخرى علـــى ســطح الأرض تتــأثر بالوسط المحيط بها . تتميز البكتيريا بأن لها المقدرة على مواءمــة نفســها بالنسبة للتغيرات التى تحدث بالوسط المحيط بها على عكس الأحياء الأخرى النباتية أو الحيوانية الأكثر رقيا . ودراسة العوامل المختلفة التى تتحكم فـــى نمو وتكاثر البكتيريا تجعلنا قادرين على التحكم فى نشاط البكتيريا بزيادته أو بتقليله أو إيقاف النمو نهائيا حسب الحاجة وتقسيم العوامل التى تؤثر علـــى نمو ونشاط البكتيريا إلى عوامل طبيعية وعوامل كيميائية ويمكن إيضاح هذه العوامل كما يلى :

أولاً : العوامل الطبيعية Natural factors

١- درجة الحرارة Temperature

إن كل عمليات النمو تعتمد على تفاعلات بيوكيميائية وتتم بواســطة بواسطة الإنزيمات داخل الخلايا وحيث أن معدل هذه التفاعلات البيوكيميائية يتأثر بدرجة حرارة التفاعل لذا نجد أن الحرارة تحدد جزئيا معــدل النمــو وكميته النهائية . كما أنها تؤثر على عمليــات التمثيــل الغذائيـــة والشــكل المظهرى للخلايا وبدرجة كبيرة .

وعموما تستطيع البكيتريا أن تنمو فى نطاق متســع مــن درجــات الحرارة وإن كانت تختلف فى هذه القدرة من نوع إلى آخر ، فمثلاً بكتيريــا *B. subtilis* تنمو بين ٦-٥٠°م وبكتيريا القولون *E. coli* تنمو فـــى مجـــال حرارى من ١٠-٤٥°م . بينما يوجد هناك أنواع أخرى لها نطاق حـــرارى ضيق للنمو مثل ميكروب السل *Mycobacterium tuberculosis* الذى ينمو

بين ٣٠-٤٠°م وميكروب السيلان الذى لا ينمو إلا بالقرب من ٣٧°م . ولكل نوع من البكتيريا وأحياناً لكل سلالة بكتيرية ثلاث درجات حرارة هي :

أ- درجة الحرارة الدنيا Minimum growth temperature

وهى أقل درجة حرارة يمكن للميكروب أن ينمو عندها بحيث إذا إنخفضت درجة الحرارة درجة واحدة عنها فإن الميكروب لا يستطيع النمو . وتجدر الإشارة هنا بأن درجة نمو الميكروب لا تصل إلى أقصاها من الناحية الفسيولوجية على هذه الدرجة وكذلك النشاط الإنزيمى خاصة الخارجي منه .

ب- درجة الحرارة المثلى Optimum growth temperature

وهى أنسب درجة حرارة للنمو وعند هذه الدرجة يكون النمو سريعاً وكميته كبيرة علاوة على وصول الحالة الفسيولوجية إلى قمتها والنشاط الإنزيمى إلى أقصاه .

ج- درجة الحرارة القصوى Maximum growth temperature

وهى أعلى درجة حرارة يمكن للميكروب أن ينمو عندها بحيث إذا إرتفعت درجة الحرارة عنها يقف نمو الميكروب .

والنطاق الحرارى Growth temperature range الذى يستطيع ان ينمو عنده الميكروب يقع بين درجتى الحرارة الدنيا والقصوى وتختلف الأنواع الميكروبية المختلفة بالنسبة لدرجات الحرارة المذكورة . وعموماً فإن البكتيريا التى تعيش فى التربة الزراعية والماء لها درجة حرارة مثلى تقع بين ٢٢-٢٨°م . أما البكتيريا الممرضة فدرجة حرارتها المثلى ٣٧°م وهى من درجة حرارة الجسم .

وعلى أساس درجة الحرارة المثلى تقسم الميكروبات فسيولوجياً إلى ثلاثة أقسام :

أ- بكتيريا محبة للبرودة Psychrophilic bacteria

وهى البكتيريا التى درجة حرارتها المثلى أقل من ١٥°م وهى توجد في المبردات والأجواء الباردة وتسبب فساد الأغذية المخزنة في الثلاجات . وهذه تقسم إلى مجموعتين أحداهما إجبارية Obligate psycrohpiles وهى التى تموت عند درجة حرارة ٢٠°م أو أكثر قليلا والمجموعة الأخرى إختيارية Facultative psycrophiles حيث تكون درجة الحرارة المثلى والقصوى لها تكونان فى النطاق الحرارى للـ Mesophiles ولكنها بعكس للـ Mesophiles حيث تستطيع النمو على درجات حرارة قريبة أو أقل من الصفر . كذلك قدرت الحدود الحرارية المختلفة للبكتيريا المحبة للبرودة على أن تكون الدرجة المثلى تتراوح بين ١٥-١٨°م بالنسبة للبكتيريا المحبة للبرودة إجباراً بينما تكون بين ٢٥-٣٠°م بالنسبة للبكتيريا المحبة للبرودة إختياراً. أما درجة الحرارة القصوى فقد وجدت بين ١٩-٢٢°م للمجموعة الأولى وتراوحت بين ٣٠-٣٥°م للمجموعة الثانية .

تأثير درجة الحرارة المنخفضة على النمو الميكروبى

Effect of low temperature on microbial growth

عند إنخفاض درجة الحرارة فإن التمثيل الغذائى للخلايا الميكروبية يقل بسرعة حتى يصل إلى حالة سكون Dormancy عندما تنخفض درجة حرارة الوسط عن الدرجة الدنيا لنمو الميكروب . فإذا وصلت درجة الحرارة إلى درجة التجمد Freezing فإن بعض الخلايا تموت بطريقة ميكانيكية بسبب تمزيق بلورات الثلج المتكونة للخلية البكتيرية ولكن الكثير من الخلايا لا يموت ويتحمل التجميد لمدة طويلة . ولذا فإن التجميد لا يعتبر طريقة من طرق التعقيم بل يقلل الأعداد فقط ويوقف تأثير التجميد على الخلايا البكتيرية على السرعة التى يتجمد بها الماء داخل الخلية وعلى ذلك فإن التجميد السريع Rapid freezing يكون أقل ضرراً من التجميد البطئ

Slow freezing إذ أن الأخير يسبب تكون بلورات ثلجية كبيرة حادة تمزق الخلية بينما حالة التجميد السريع تؤدى إلى تكوين بلورات ثلجية صغيرة ذات شكل قطنى . ومن الفوائد العظيمة لإستخدامات درجات الحرارة المنخفضة هو إستخدامها فى صورة تسمى التجفيد Lyophilization وهى التى تحفظ بها المزارع البكتيرية لعدة شهور على درجة حرارة منخفضة بوضعها فى الثلاجة وحديثاً أمكن حفظها لمدة طويلة جداً تصل إلى عدة سنوات باستعمال طريقة التجفيد وهى طريقة تجمع ما بين التجميد والتجفيف وذلك بتجميد المزرعة تجميداً سريعاً على درجات حرارة منخفضة جداً تصل إلى -٧٨°م بواسطة الثلج الجاف (CO_2 الصلب) ثم تجفيف المزرعة المتجمدة بالتسامى تحت تفريغ . وتحفظ الميكروبات المجفدة فى أنابيب إختبار محكمة القفل مفرغة فى مكان بارد مظلم وبذا تبقى حية لسنين طويلة .

كذلك وجد عند درجات الحرارة المنخفضة فإنه يحدث إنخفاض فى معدلات التفاعلات الإنزيمية حتى يحدث تجمد فى كل النظام . وحتى عهد قريب لم يكن هناك تفسير مقنع بأن معظم البكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة يقف نموها عند درجة ١٠-١٥°م ، وكذلك معظم البكتيريا المحبة للحرارة المرتفعة عند ٤٠-٤٥°م ، إلا أنه قد ثبت حديثاً أنه بإنخفاض الحرارة فإن نواتج التفاعل فى بعض الإنزيمات تحدث تثبيطاً للتفاعل نفسه حتى يقف التفاعل تماماً وبالتالى يقف النمو . وعملياً قد وجد أن الأغذية المجمدة يمكنها الإحتفاظ بكائنات دقيقة حيث وجد أن البكتيريا التى تسبب التيفود *Salmonella typhi* يمكن عزلها من أغذية محفوظة لمدة عام على درجة -٢٠°م .

ب- بكتيريا محبة للحرارة المتوسطة Mesophilic bacteria

وهى البكتيريا التى لها درجة حرارة مثلى تتراوح بين ١٥-٤٥°م وينتمى إلى هذا القسم أغلب أنواع البكتيريا مثل بكتيريا التربة الزراعية

والماء والبكتيريا الممرضة. وتعرف البكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة والتى تستطيع خلاياها الخضرية أن تتحمل درجة حرارة البسترة العادية باسم البكتيريا المقاومة للحرارة Thermoduric . وقد وجدت الحدود الحرارية لهذا النوع من البكتيريا تقع بين ١٠-١٥°م ، ٢٠-٤٥°م ، ٣٥-٤٧°م وذلك بالنسبة للدرجات الدنيا ، المثلى ، القصوى على الترتيب .

ج- بكتيريا محبة للحرارة المرتفعة Thermophilic bacteria

وهى البكتيريا التى درجة حرارتها المثلى أعلى من ٤٥°م وتوجد طبيعياً فى العيون الساخنة وفى السماد الصناعى وسماد الأسطبل وفى التربة الزراعية أيضاً وفى الأغذية المعلبة المحفوظة بالحرارة حيث تؤدى هذه البكتيريا إلى فساد هذه الأغذية مالم تبرد بسرعة بعد المعاملة الحرارية وتقسم البكتيريا المحبة لدرجات الحرارة المرتفعة إلى بكتيريا محبة لدرجات الحرارة المرتفعة إختياراً Facultative thermophiles وهى التى تستطيع النمو أيضاً عند درجات الحرارة المتوسطة . بينما المجموعة الثانية هى بكتيريا محبة لدرجات الحرارة المرتفعة إجباراً obligate thermophiles وهى التى لا تستطيع النمو عند درجة حرارة أقل من ٤٥°م . هذا وقد قدرت الدرجة الدنيا لهذه البكتيريا ما بين ٤٠-٤٥°م بينما وجدت درجة الحرارة المثلى ما بين ٥٥-٧٥°م أما الدرجة القصوى فقد قدرت ما بين ٦٠-٨٠°م .

تأثير درجة الحرارة المرتفعة على النمو الميكروبى

Effect of high temperature on microbial growth

إذا إرتفعت درجة الحرارة عن الدرجة القصوى للميكروب فإنه يحدث إتلاف Denaturation للبروتين الإنزيمى والبروتين الخلوى مما يؤدى إلى موت الخلية البكتيرية . وقد وجد أن معدل الموت يزداد لوغاريتمياً بإرتفاع درجة الحرارة . والحرارة الرطبة أشد تأثيراً على الخلايا البكتيرية

من الحرارة الجافة حيث أن الرطوبة تساعد على نفاذية الحرارة وبالتالى إلى سرعة إتلاف البروتينات وتجميعها Coagulation .

ونظراً لأن الخلايا الخضرية تهلك بتعريضها لدرجة ٨٠°م لعدة دقائق قد تصل إلى ١٥ دقيقة أو ٦٠°م لمدة نصف ساعة ، فإن هذه الخاصية تستخدم فى تحضير اللقاح Vaccine حيث تعرض البكتيريا لدرجة ٦٠°م لمدة ٣٠-٦٠ دقيقة حيث تقتل الخلايا البكتيرية أو بتعريضها إلى ٤٥°م لمدة ٣٠ دقيقة حيث تضعف الخلايا البكتيرية ولا تقتل دون الإضرار بمركبات الخلية اللازمة لإحداث المناعة .

المقاومة الحرارية Heat resistance

تعتبر الجراثيم البكتيرية أكثر مقاومة للحرارة من الخلايا الخضرية، فينما يمكن قتل الخلايا الخضرية لنوع من البكتيريا على درجة حرارة أقل من ١٠٠°م ، فإن معلق الجراثيم يقاوم هذه الدرجة لمدة ١٦ ساعة ولذا فإنه لا يكتفى بالغليان لقتل الجراثيم بل يلزم إستعمال درجة أعلى من ١٠٠°م بإستعمال أجهزة التعقيم المختلفة وتعود مقاومة الجراثيم البكتيرية لفعل الحرارة العالية إلى أن الماء الموجود بالجراثيم يكون على حالة مرتبطة وليس ماءاً حراً (aw) .

درجة الحرارة القاتلة Thermal death point

إذا إرتفعت درجة الحرارة عن الدرجة القصوى فأننا نصل إلى درجة الحرارة القاتلة وتعرف بأنها أقل درجة حرارة يقتل عندها الميكروب إذا عرض لها ١٠ دقائق ، على أن يكون الميكروب نامى فى مزرعة عمرها ٢٤ ساعة .

الوقت المميت Death time

وهو الوقت بالدقيقة اللازم لقتل الميكروبات المرجودة فى حجم معين عند درجة حرارة معينة .

ومعرفة درجات الحرارة القاتلة والوقت المميت للميكروب له أهمية تطبيقية فى معاملة الأغذية المعلبة Canned foods حراريا بقصد حفظها من الفساد الميكروبى الذى قد يحدث أثناء فترة الحفظ .

وقد خلصت النتائج الخاصة بتأثير الحرارة على معدل النمو البكتيري إلى أنه من الضرورى الإشارة إلى تأثير الحرارة على معدل التفاعلات الكيماوية . فإن معدل معظم التفاعلات الكيماوية يتضاعف تقريبا عند زيادة درجة الحرارة ١٠ درجات مئوية . وبذلك فإن معدل التفاعلات الأيضية الخلوية يزداد بإزدياد درجة الحرارة وذلك لحد محدود حيث أنه بزيادة الحرارة فوق الدرجة المثلى يبدأ حدوث تغير فى طبيعة Denaturatiuon البروتين الخلوى نتيجة الحرارة المرتفعة ، ويصاحب ذلك تدهور فى التفاعلات الإنزيمية وبالتالى فى معدل النمو . ويلاحظ النمو سيتوقف تماما عندما يتحطم تماما معظم البروتين الضرورى اللازم لحياة الخلية نتيجة لتأثره بالحرارة .

وفى ضوء ما سبق فإن البكتيريا المحبة للحرارة المرتفعة لابد وأنها تمتلك بروتين خلوى له درجة عالية من حيث تحمله لدرجات الحرارة المرتفعة . وقد ثبت ذلك بالدراسات المقارنة لبعض الإنزيمات المعزولة من بكتيريا محبة للحرارة المرتفعة والمحبة للحرارة المتوسطة وفى كل حالة فحصت كان الإنزيم المعزول من بكتيريا محبة للحرارة المرتفعة أكثر مقاومة نتيجة لتغير طبيعته Denaturation بالحرارة المرتفعة عن نفس الإنزيم المعزول من بكتيريا محبة للحرارة المتوسطة .

٢ - الرطوبة Moisture

لما كانت البكتيريا تتغذى بالإنتشار الغشائى لذلك فإن الماء يكون ضروريا لحياتها ليذيب المواد الغذائية اللازمة للخلية ويحمل المواد الناتجة عن التمثيل الغذائى خارج الخلية وكذلك يعمل الماء على المحافظة على رطوبة البروتوبلازم الخلوى . ويلاحظ أن كمية الرطوبة الحرة Available moisture

الموجودة بالبيئة النامى بها الميكروب هى التى تحدد نموه ومدى نشاطه وليست كمية الرطوبة الكلية التى تحتويها البيئة . وقد يكون محتوى البيئة من الرطوبة عالى ولكنها توجد فى صورة غير حرة كأن تكون مرتبطة بالبروتينات والمواد الغروية أو يكون الضغط الإسموزى مرتفع فى البيئة وحينئذ لا يستطيع الميكروب الإستفادة من هذه الرطوبة ومن ثم يقف نموه نتيجة وقف النشاط البيوكيميائى للخلية .

ويمكن التعبير عن الرطوبة الحرة بإستعمال تعبير النشاط المائى Water activity (aw) وهو عبارة عن النسبة ما بين الضغط البخارى لمحلول (بيئة البكتيريا) وبين الضغط البخارى للمذيب (الماء) . وبذلك فإنه يمكن إعتبار أن درجة النشاط المائى هو المقياس الذى يعبر عن كمية الماء الحر الموجودة بالبيئة أو المادة الغذائية . وبالنسبة للماء النقى فإن (aw) = ٠١ والحد الأدنى من النشاط المائى (aw) اللازم لنمو الكائنات الدقيقة يحدده عوامل عديدة متعلقة بالظروف البيئية النامى فيها الميكروب ونوع الميكروب النامى وعموماً فقد وجد أن الحد الدنى من (aw) اللازم لنمو البكتيريا العادية هو ٠,٩١ بينما الحد الدنى من (aw) اللازم لنمو الخميرة هو ٠,٨٨ أما الحد الدنى من (aw) اللازم لنمو الفطريات هو ٠,٨١ . ومن هذه القيم يتضح أن البكتيريا تحتاج إلى رطوبة حرة أكثر من الخميرة وتحتاج الخميرة إلى رطوبة حرة أكثر من الفطر . وبصفة عامة فأنه يمكن إعتبار أنه إذا قل (aw) عن ٠,٧٠ فإن معظم الكائنات الحية الدقيقة تقف عن النمو . وإذا قل مستوى الرطوبة عن ١٠-١٥٪ فى أى وسط فإن نمو الكائنات الحية الدقيقة يحد إلى درجة كبيرة .

٣- الضغط الإسموزى Osmotic pressure

يؤثر الضغط الإسموزى تأثيراً مباشراً على سرعة وإتجاه تيار الماء من البيئة إلى خلية الميكروب وبالعكس وبذا يؤثر على مقدار إستفادته من

الرطوبة . وعموما فإن تحرك المحاليل إلى خارج الخلية ودخول الماء إليها يبدو محكوماً بالغشاء السيتوبلازمي والجدار الخلوى للخلية . ويلاحظ أن درجة تأثر البكتريا بالضغط الإسموزى أقل من درجة تأثر الخلايا النباتية والحيوانية ذلك لأن البكتيريا تحتوى على جدار صلب جداً فلا يظهر عليها تغير واضح في الحجم عند حدوث بلزمة أو إنتفاخ .

وتحتاج معظم الخلايا البكتيرية أثناء نموها إلى بيئات سوية الضغط الإسموزى Isotonic حيث أن المحاليل عالية الإسموزية Hypertonic (٣٠٪ NaCl) تسبب بلزمة الخلية Plasmolysis والمحاليل منخفضة الإسموزية Hypotonic (٠,١٪ NaCl) تسبب إنتفاخها Plasoptysis وكلاهما يؤدى إلى وقف نمو الخلية وقد يسبب موتها . وتختلف البكتيريا في درجة تحملها للتركيزات الزائدة من الملاح المختلفة ، والتركيز المعوق للنمو يختلف بإختلاف نوع الملح المستعمل وبإختلاف الميكروب تحت الدراسة وقد وجد أن بعض البكتيريا يتحمل تركيز ٢٥٪ ملح كما أن البكتيريا المحبة للملوحة Halophilic bacteria تنمو على الجلود المملحة ويمكن عزلها من الأسماك المملحة ومن غيرها من المواد ذات التركيز المرتفع من ملح الطعام مثل المخللات (١٥-٢٠٪) وماء المحيطات حيث تصل درجة الملوحة ٤٪ .

وتستطيع بعض أنواع الخمائر والفطريات أن تنمو في محاليل بها نسبة عالية من السكر كالعسل الأبيض والمربى وقد تسبب فسادها تحت ظروف معينة وتسمى هذه الميكروبات محبة للضغط الإسموزى المرتفع Osmophilic bacteria حيث أنها تفضل النمو في الوسط العالى الإسموزية عن التركيزات العادية ويلاحظ أن الكائنات التى تتحمل الضغط الإسموزى المرتفع تستطيع أن تنمو في بيئة ذات نشاط مائى قليل . هذا ولقد وجد أن الحد الأدنى من (a_w) اللازم لنمو البكتيريا المحبة للملوحة Halophilic bacteria

هو ٠,٧٥ وأن الحد الأدنى من (a_w) اللازم لنمو الخمائر المحبة للضغط الإسموزى Osmophilic yeast هو ٠,٦ والحد الأدنى من (a_w) اللازم لنمو الفطريات المحبة للجفاف هو ٠,٦٥ والمجموعات الثلاثة السابقة من الكائنات الحية الدقيقة تتحمل الضغط الإسموزى المرتفع .

ونظراً لأن كثير من الميكروبات يثبط نموها عند تركيز ملح يصل ١٠-١٥٪ وتركيز سكر يصل إلى ٥٠-٧٠٪ لذلك تستخدم خاصية الضغط الإسموزى فى حفظ الأغذية بإستعمال محاليل ذات ضغط إسموزى مرتفع تعيق نمو الخمائر والبكتيريا والفطريات عن النمو مثل إضافة السكر إلى المربات والجلى والألبان المكثفة وغيرها ومثل إضافة الملح إلى اللحوم والأسماك المملحة والمخللات وغيرها من الأغذية حيث يسبب تجفيف الخلايا نتيجة البلزمة مما يوقف نموها وقد لا تتحطم الخلايا .

٤ - الجفاف Desiccation

تختلف مقاومة الخلايا الخضرية للبكتيريا للجفاف فمثلاً الميكروب المسبب للسل Mycobacterium tuberculosis يعتبر من الميكروبات شديدة المقاومة للجفاف وقد وجد انه يتحمل الجفاف لمدة ٩٠ يوماً بينما الميكروب المسبب لمرض الكوليرا Vibrio cholera يكون شديد الحساسية للجفاف حيث يتحمل الجفاف لمدة يومين فقط . وقد وجد أن البكتيريا ذات العلبة أكثر مقاومة للجفاف عن مثيلاتها اللاتى ليس لهن علبة ذلك نظراً لإحتفاظ الكبسولة المتكونة من السكريات العديدة بكمية من الماء مما يجعل الخلية تحتفظ برطوبتها . كما أن الجراثيم البكتيرية تكون شديدة المقاومة للجفاف ذلك نظراً لتركيبها متعدد الأغلفة وإنخفاض مستوى الرطوبة فى بروتوبلازم الجرثومة . فجراثيم الميكروب المسبب للحمى الفحمية B. anthracis يمكن أن تنبت بعد حفظها على حالة جافة لمدة عشرة سنوات أو أكثر .

ولو أن بعض البكتيريا الخضرية وأغلب الميكروبات المتجرثمة تحتفظ بحيويتها فى حالة الجفاف لمدة طويلة إلا أن نموها ونشاطها الفسيولوجي والبيوكيميائى يكون متوقفاً فى هذه الحالة نظراً لعدم وجود الرطوبة الكافية التي تمكن الميكروب من الحصول على غذائه والقيام بنشاطه الحيوي . ويستعمل التجفيف في حفظ كثير من الأغذية كما فى حالة الفواكه واللبن وبعض الأغذية الأخرى حيث تحفظ من الفساد لمدة طويلة .

٥- الإحتياجات الأكسجينية Oxygen reqirements

يعتبر الأكسجين من أهم الغازات المكونة للهواء الجوى والتى لها تأثير كبير على نمو الكائنات الحية الدقيقة ونشاطها . والبكتيريا قد تحتاج إلى أكسجين الهواء الجوى لمواصلة حياتها وعلى هذا الأساس تقسم البكتيريا تبعاً لحاجتها إلى الأكسجين إلى أربعة أقسام :

أ- بكتيريا هوائية إجبارية Strict aerobes

وهذه يلزم لنموها وتكاثرها توفر الأكسجين الجوى O_2 فى الوسط الذى تنمو فيه وإلا توقفت عن النمو وهى تستخدم الأكسجين للحصول على الطاقة ويعمل كعامل أكسدة نهائى Terminal oxidizing factor ولأكسدة المادة العضوية والغير عضوية للحصول على الطاقة ومن أمثلتها بعض الأنواع التابعة لأجناس *Pseudomonas* ، *Bacillus* ، *Mycobacterium* وكذلك بكتيريا التأزت والأزوتوباكتر . وقد يرجع إحتياج ميكروب هذا القسم للأكسجين إلى أنها لا تحتوى على إنزيمات التنفس اللاهوائى أو أن نواتج التنفس اللاهوائى تعتبر سامة لها .

ب- بكتيريا لا هوائية إجبارية Strict anaerobes

وهذه تنمو فقط فى غياب الأكسجين حيث أن وجوده يسبب وقف نشاطها وهذه المجموعة تحصل على الطاقة اللازمة لها بتحويل المواد ذات

الطاقة العالية إلى مواد ذات طاقة أقل أو باستخدام مواد محتوية على الأكسجين وذلك لأكسدة المواد العضوية . ومن أمثلتها الميكروبات التابعة لجنس *Clostridium* وقد فسر الأثر الضار للأكسجين على نمو الميكروبات اللاهوائية إجباراً فى أنها تحتوى على إنزيمات يجب أن تكون فى حالة مختزلة حتى تكون فعالة وبذلك يكون التثبيط بسبب التأثير على الإنزيمات كما أن هذه الميكروبات لا تحتوى على إنزيم الكتاليز الذى يحلل فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 إلى ماء وأكسجين ولكنها فى نفس الوقت تحتوى على الإنزيمات القادرة على توليد فوق أكسيد الأيدروجين من الأكسجين الجزيئى. لذلك وجد أن موت هذه الكائنات بسبب الأكسجين يكون بسبب تراكم فوق أكسيد الإيدروجين بعد تكوينه فى خلاياها والذى يعتبر مادة سامة .

ج- بكتيريا لا هوائية إختياراً Facultative anaerobes

وهذه المجموعة من البكتيريا تستطيع النمو فى وجود أو فى غياب الأكسجين الجوى ومن أمثلتها بكتيريا القولون colifrom bacteria مثل *E. coli* وكثير من أجناس الخمائر . وتتميز هذه الميكروبات بقدرتها على إستعمال الأكسجين كعامل مؤكسد نهائى عندما يكون متاحاً ولكنها تستطيع أيضاً أن تحصل على الطاقة فى غيابه عن طريق تفاعلات التخمر .

د- بكتيريا محبة للهواء بكمية قليلة Microaerophiles

وهذه تنمو فى وجود كمية ضئيلة من الأكسجين فى الوسط الذى توجد به أى أنها تحتاج تركيز أقل من تركيز وجوده فى الهواء الجوى أى أقل من ٠,٢ ومن أمثلتها بعض الأنواع التابعة لجنس *Lactobacillus*

٦- تركيز أيون الإيدروجين pH

يؤثر تركيز أيون الأيدروجين بالبيئة على نمو ونشاط البكتيريا فالبيئات الشديدة الحموضة أو شديدة القلوية توقف نمو الخلايا البكتيرية وقد

تحدث تأثيراً ساماً للخلايا البكتيرية نتيجة تجميع وتخثر البروتين الإنزيمي بالخلية coagulation . ولكل نوع من البكتيريا درجة pH ولكن معظم الخلايا البكتيرية تفضل النمو في وسط يقترب من التعادل (pH من ٦-٨) وهناك بعض الأنواع التي تفضل النمو في وسط حامضي مثل بكتيريا حامض اللاكتيك *Lactobacillus lactis* وبكتيريا حمض الخليك *Acetobacter aceti* وهناك أنواع تتحمل الحموضة العالية Aciduric مثل بكتيريا أكسدة الكبريت *Thiobacillus thiooxidans* التي تستطيع تحمل حموضة تصل إلى (pH = ٢) وهناك بعض الأنواع التي تفضل النمو في وسط قلوي (pH = ٨,٥) مثل بكتيريا اليوريا *Sporosarcina urea*

ومعظم أنواع الخميرة تنمو جيداً في وسط حامضي يصل إلى pH من ٣-٥ أما الفطر فإنه يتحمل حموضة عالية ذات pH منخفض يصل إلى ١,٦ وإن كان له القدرة على النمو في نطاق متسع من درجات الحموضة ولكل نوع من أنواع الميكروبات ثلاث درجات حموضة :

أ- **درجة الحموضة الدنيا Minimum pH value** : وهي أقل درجة حموضة يحدث عندها نمو للميكروب تحت الدراسة .

ب- **درجة الحموضة المثلى Optimum pH value** : وهي أنسب درجة حموضة يستطيع أن ينمو عندها الميكروب .

ج- **درجة الحموضة القصوى Maximum pH value** : وهي أعلى درجة حموضة يحدث عندها نمو للميكروب .

وعند تنمية ميكروب مخمر للسكريات في بيئة غذائية فإنه ينتج أحماضاً تتراكم في البيئة التي من شأنها الحد من نمو الميكروب ونشاطه وعليه يجب معادلة هذه الأحماض وذلك بإضافة مواد معادلة للحموضة في البيئة مثل كربونات الكالسيوم أو الماغنسيوم .. ـ يكون إنماء ميكروب

محلل للبروتينات في بيئة غذائية غالباً ما ينتج نواتج التمثيل الغذائي والتي من شأنها أن ترفع قيمة الـpH وفي هذه الحالة تضاف فوسفات البوتاسيوم بغرض تنظيم قيمة الـpH .

٧- الأشعة **Radiation**

يعرف الإشعاع بأنه إنبعاث Emission خلال الفضاء أو خلال وسط مادى ولقد دلت نتائج الأبحاث أن نفاذ الأشعة داخل الخلية الحية يتناسب عكسياً مع طول الموجة حيث أنه كلما قصر طول الموجة كلما أصبحت أكثر نفاذية واشد قتلاً وتأثيراً على خلية البكتيريا . فالأشعة الحرارية Heating radiation كالأشعة تحت الحمراء Infrared لها طول موجى A°١٢٠٠٠–A°٥٠٠٠٠٠ ونبذبة منخفضة ولها طاقة غير قادرة على إحداث تفاعل كيميائى ولذا فإنها تتحول سريعاً إلى حرارة وتأثيرها المباشر يكون على البكتيريا ضعيف وهذا يفسر إستعمال لمبات الأشعة تحت الحمراء كمصدر للحرارة .

أما الأشعة التى طول موجتها قصير يتراوح من A°١٣٨ إلى A°٣٩٠٠ هى الأشعة فوق البنفسجية Ultr violet radiation وهى أشعة غير مؤينة Non-ionizing radiation فإنها ذات موجات أقصر ونبذبة أعلى وبذلك فهى تحتوى على طاقة تكفى لإحداث تفاعل كيميائى . ولقد وجد أن الموجات ذات طول موجى حوالى ٢٦٥٠ أنجستروم يكون أكثر تأثيراً على البكتيريا . ويلاحظ أن ضوء الشمس يتكون جزئياً من أشعة فوق بنفسجية ولكن معظم الجزء الضار يمتص بواسطة الغلاف الجوى المحيط بالأرض والمكون من طبقة الأوزون ozone والسحب والغيوم . وبذلك فالذى يصل لسطح الأرض يكون مركز فى أطوال بين ٢٧٨٠–٣٩٠٠ أنجستروم . وبذلك فإن ضوء الشمس الذى يصل لسطح الأرض يكون له تأثير مبيد قليل جداً على الكائنات الحية الدقيقة .

وتوجد مصابيح تعطى إشعاعات فـوق بنفسـجية (٢٦٠٠-٢٧٠٠ أنجستروم) تستعمل في التعقيم أو لتقليل التعداد الميكروبي في غرف العمليات وفي مصانع الأدوية وصناعات الألبان والمواد الغذائيـة وكـذلك معاملـة الأسطح الملوثة . ويلاحظ أن الإشعاعات فوق البنفسجية لها قابلية قليلة فـي إختراق المواد وأن طبقة رقيقة من الزجاج تكون كافية لإزالة كمية كبيـرة منها . ولقد تمخضت نتائج الدراسات التي قامت لدراسة الطريقة التي تـؤثر بها Mode of action الأشعة فوق البنفسجية على الخلايا وثبت أن الأشـعة فوق البنفسجية تسبب تكوين روابط تعاونية Covalent bonds بين جـزيئين متجاورين من Thymine على نفس شريط الـDNA وبذلك تتكون روابـط داخل الشريط الواحد مما يؤدى إلى تكـوين Thymine thymine dimmer وأن هذه الرابطة التعاونية تشوه شريط الـDNA بدرجة تؤدى إلى إختلاف خواص الروابط الهيدروجينيـة للبيوريـنـات والبريميـدينات بجـوار هـذا الـDimer ونتيجة لذلك فإنه قد تدخل بيورينات وبريميدينات خاطئـة فـي شريط DNA الجديد الذي سيتكون على إمتداد الشريط المتغير .

أما الأشعة المؤينة Ionization radiation فهي الأشعة ذات الموجة الأقل من ٢٠٠A° ومنها أشعة إكس X-rays (١-١٠٠A°) وهي ذات تأثير مميت على الكائنات الدقيقة ، ولها القدرة على التغلغل ولو أنها غير عمليـة لإستعمالها مقاومة مجاميع الميكروبات ذلك لأنها عالية التكـاليف ، ولكنهـا تستعمل بكثرة في مجال الميكروبيولوجي وذلك لإنتاج طفـرات ميكروبيـة Microbila mutations . وأشـعة جامـا Gamma rays (٠,٠١-٠,١A°) وهي إشعاعات ذات طاقة عاليـة تنبعـث مـن بعـض النظـائر المشـعة Radioactive isotopes مثل الكوبلت ٦٠ . وهي تشبه أشعة أكس ولكن لها طول موجات أقصر ولذلك يمكن إستعمالها في تعقيم المواد مثل الأغذية .

ويبدون أن الطريقة التى تؤثر بها Mode of action على الخلايا أنها تحدث Direct hit على بعض المواد داخل أو بالقرب من الخلية محدثة تـأين Ionization والذى يسبب موت الخلايـا . وأشـعة كوزميـك (٠,٠٠٠١- ٠,٠١ A°) فهى ذات موجات قصيرة وذبذباتها عالية جداً والطاقة المنبعثة منها عالية لدرجة أن الجزيئات التى تتعرض لها تتأين ولذا سميت بالأشعة المؤينة .

وعندما تموت الخلايا البكتيرية بتأثير هذا الأشعة فإن ذلـك يحـدث بدون رفع درجة الحرارة ولذا فإن التعقيم فى هذه الحالة يسمى التعقيم البارد Cold sterilization ويمكن إستعمال الإشعاع فى تعقـيم المـواد الحساسـة للحرارة المرتفعة مثل بعض المواد الغذائية والأدوية . ويحدث التأثير الضار للأشعة عندما تمتص بواسطة الخلايا البكتيرية وإمتصاص الطاقة الإشعاعية بواسطة الخلايا ينتج عنه إما تأثير مميت طبقاً لنظام لوغارتمى أو حـدوث طفرات Mutations نتيجة تغيير فى التركيب الوارثى فى الخلايا التـى قـد تنجو من التأثير المميت . ويرجع التأثير القاتل للأشعة على البكتيريا إلى أن الطاقة الإشعاعية الممتصة تحدث تغيير فى التركيب الجزيئى لمكونات الخلية خاصة فى مناطق الخلية الحساسة كالإنزيمات والمحتويات النووية ويسـمى هذا التأثير بالتأثير المباشر وقد يرجع التأثير إلى إحداث تفاعلات كيميائيـة تكون نواتج تسبب إفساد جزيئات السيتوبلازم والأجسـام النوويـة بالخليـة ويسمى هذا بالتأثير غير المباشر .

يوجد فى الطبيعة مجموعة من البكتيريا تتطلب وجود الضوء الشمسى لكى تنمو وتتكاثر . وهى البكتيريا الممثلة للضوء مثل البكتيريـا الخضـراء والحمراء . وتتميز هذه المجموعة من البكتيريا بوجود مـواد ملونـة تشـبه الكلوروفيل النباتى تمكنها من إمتصاص ضوء الشمس وبـذا تحـول الطاقـة الشمسية إلى طاقة كيميائية عن طريق التمثيل الضوئى . وعكس ذلك نجـد أن

أغلب أنواع البكتيريا لا تحتوى على مثل هذه المواد الملونة وبالتالى فإنه ليس لها القدرة على إستخدام الضوء الشمسى كمصدر للطاقة وبذلك فإن الأشعة المرئية وغير المرئية تكون عديمة الفائدة لها أو يكون لها تأثير ضار.

ليست الأشعة المؤينة فى الطبيعة بذات أهمية لأن أغلبها يمتص فى طبقات الجو العليا ولا يصل إلينا . والأشعة التى تصل إلينا تقع فى منطقة البنفسجية الأشعة فوق البنفسجية والأشعة المرئية والأشعة تحت الحمراء والتأثير القاتل لضوء الشمس على البكتيريا يرجع إلى إحتوائه على الأشعة فوق البنفسجية ذات الطول الموجى الأقل من ٣٠٠٠ غير أن أشد موجاتها قتلا هو ذات الطول ٢٥٣٧ ، حيث أنه الطول الموجى الذى يتم إمتصاصه بواسطة الـDNA ومن ثم يؤدى إلى تلفه ويحتوى ضوء الشمس على كمية قاتلة من هذه الأشعة المهلكة للميكروبات على سطح الأرض .

وجراثيم الخلايا البكتيرية والفطر تتأثر أيضا بالأشعة فوق البنفسجية، كنها تكون أكثر مقاومة من الخلايا الخضرية . ولقد وجد أن الجراثيم يلزم لقتلها على الأقل ضعف الجرعة من الأشعة التى تقتل الخلايا الخضرية كما أن البكتيريا الموجبة لجرام تكون أكثر مقاومة من تلك السالبة لجرام وربما يرجع ذلك للإختلاف فى تركيب الجدار الخلوى بينهما . ويستفاد عملياً من التأثير القاتل للأشعة فوق البنفسجية على الكائنات الحية الدقيقة فى تعقيم الأماكن كالمستشفيات كما تستعمل أيضاً فى التعقيم الجزئي لبعض الأطعمة كاللحوم والفطائر وفى تعقيم سطوح أدوات مصانع الألبان كالزجاجات والصفائح والأوعية وذلك باستخدام لمبات خاصة لإنتاج مثل هذه الأشعة مثل لمبات بخار الزئبق المصنوعة من الكوارتز أو باستخدام القوس الكهربى .

وتوجد ظاهرة تسمى بظاهرة التنشيط الضوئى Photoreactivation فإذا عرض معلق من خلايا بكتيرية إلى جرعة ضارة من إشعاع فوق بنفسجى

ثم عرض بعد ذلك مباشرة إلى الضوء المرئى فإن بعض الخلايا المثبطة ستشفى وتسمى هذه الظاهرة بظاهرة التنشيط الضوئى ، وتفسر هذه الظاهرة بأنه توجد إنزيمات معينة فى بعض أنواع البكتيريا تقوم بإصلاح الضرر الذى تحدثه الأشعة فوق البنفسجية فيوجد إنزيم قادر - فى وجود الضوء - على تكسير الرابطة التعاونية التى تربط بين قاعدتى الثيمين وتسمى بالإصلاح الضوئى Light repair . بعض البكتيريا تمتلك إنزيمات تقطع أو تستأصل الجزء من شريط الـDNA المفرد الذى حدث له ضرر ، وإنزيمات أخرى تصلح القطع الناتجة عن طريق تخليق جزء من شريط مكمل للشريط غير المتأثر بالضرر. وحيث أن هذه الإنزيمات لا تحتاج إلى الضوء لتؤدى عملها فتوصف هذه العملية باسم الإصلاح فى الظلام Dark repair .

ثانياً : العوامل الكيميائية Chemical factors

لقد سبق أن بينا أن التأثير الفعال للعوامل الطبيعية قد يرجع أساساً إلى أصل كيماوى كما حدث فى تأثير الإشعاع . وتختلف المواد الكيميائية كثيراً فى نوع ومدى تأثيرها على الميكروبات فبعضها يكون موقف لنمو الميكروبات دون قتلها وبعضها قاتل للميكروبات عموماً . وبعضها تقتل البعض دون البعض الآخر والإختلاف فى نوع ومدى التأثير يرجع لنوع المادة الكيماوية المستخدمة ونوع الميكروب . فالميكروبات تختلف كثيراً فى حساسيتها للمواد الكيماوية المستخدمة وعموماً فإن الأنواع المتجرثمة تكون أكثر مقاومة لأثر المواد الكيماوية عن الأنواع التى لا تكون جراثيماً كما يختلف التأثير حسب عمر المزرعة فالميكروبات فى طور الهبوط تكون أسرع تأثراً بالمواد الكيماوية عن تلك الميكروبات التى تكون فى الطور الثابت . كما يختلف التأثير حسب نوع الوسط والغرض الذى يستخدم من أجله المواد الكيماوية فبعض المواد الكيماوية يقل تأثيرها القاتل للميكروبات

فى وجود مواد عضوية في الوسط . كما أن فـى حالـة إسـتخدام المـواد الكيماوية لمقاومة ميكروب فى جسم الإنسان أو الحيوان .

وكما سبق أيضاً أن ذكرنا أن أى مزرعة ميكروبية لا تسـتمر فـى نموها إلى ما لا نهاية وذلك أسباب عديدة منها تراكم المواد الكيماوية الناتجة عن النشاط الأيضى للخلية . ولاشك أن ما يشاهد فى المزارع المنمـاه فـى المعمل قد يحدث أيضاً فى البيئات الطبيعية التى تعيش فيها البكتيريا معيشـة مختلطة مع بعضها ، فقد يحدث أن تستهلك بعض الكائنـات الناميـة فـى المخلوط النواتج النهائية لنمو كائنات أخرى ، وهى بذلك تقلل من تراكمهـا وتعطى فرصة أكبر لإستمرار النمو وعدم توقفه أو على العكس قـد تعجـل بعض الكائنات بإيقاف نمو البعض الآخر نتيجة لإفرازها موند سامة لغيرها من الكائنات . من ذلك نرى أن النمو المختلط فى الطبيعة يعمل على إحداث توازن للمجموع المختلط لتنظيم سيادة مجموعة معينة من الكائنات فى البيئة المختلطة أو إخفاء نوع آخر منها العلاقة البيولوجية مثل تطفل Parasitism وتآزر Commensalism ونفعة من جانب واحد أو تنشيط من جانب واحد أو من الجانبين Synergism وتكافل Symbiosis وتضاد Antagonism.

وإنه لمن الضرورى إختيار المادة الكيماوية ونسبتها على أساس أن لا يكون لها أثر سيئ على الإنسان أو الحيوان . حيث يوجـد مـا يسـمى بظاهرة التضاد الكيماوى Chemical antagonism وهى الظـاهرة الأكثـر أهمية فى هذا الموضوع . والمواد الكيماوية المؤثرة على نمو البكتيريا عديدة منها ذات الأصل البيولوجي وتعرف بالمضادات الحيوية ومنها غير بيولوجي وجميعها تؤثر تأثيراً ضاراً على البكتيريا ، إما عن طريـق إيقافهـا لنمـو البكتيريا أو تأثيرها المميت . وهناك عدد قليل من هذه المواد الكيماوية مـا يمكننا إستعماله فى علاج الأمراض التى تصيب الإنسـان والحيـوان عنـد

وصولها داخل الجسم وتعرف هذه المواد باسم Therapeutants وذلك لتأثيرها على خلايا البكتيريا وقلة تأثيرها على الخلايا الحيوانية . أما المواد التى تؤثر على كل من الخلايا البكتيرية والخلايا الحيواينة فلا يمكن إستعمالها داخلياً بل يمكن الإكتفاء باستعمالها السطحى فقط ، وتعرف بالمطهرات Antiseptics . لهذه الأسباب مجتمعة لا يمكن إيجاد مبيد كيماوى واحد يستخدم لجميع الأغراض Universal disinfectant وعموماً فإنه يمكن تقسيم المواد الكيماوية من حيث أثرها على الميكروبات إلى Microbicide وهى مواد قاتلة للميكروبات ، Microbistatic وهى مواد موقفة للنمو ، Antiseptic وهى المواد المطهرة التى توقف نمو بعض أنواع الميكروبات وتقتل البعض الآخر . ويجب أن نشير إلى أنه ليس هناك حد فاصل فى كثير من الأحوال بين هذه التأثيرات الثلاثة للمواد الكيماوية . فالماد الكيماوية الواحدة قد يكون لها فى تركيز معين تأثير موقف للنمو وفى تركيز آخر تأثير قاتل للميكروبات ويعتمد هذا على تركيز المادة ، نوع الميكروب تحت الدراسة وتركيز الميكروب علاوة على فترة تعرض الميكروب للمادة . هذا بجانب تأثير البيئة وتركيبها ودرجة حرارة التحضين ووجود مادة عضوية من عدمه . وسنناقش فيما يلى أهم المجاميع الكيماوية ذات التأثير على الميكروبات . ومن أمثلة هذه المجاميع التى تستعمل خارجياً فى التطير أو الإبادة أو العلاج ما يلى :

١- الأحماض Acids

يرجع التأثير القاتل للأحماض المعدنية إلى إنفراد أيون H^+ عند تأينها فى المحاليل المائية وتتناسب قوة الأحماض القاتلة تناسبا طردياً مع درجة تركيز أيون الأيدروجين حيث أن كمية قليلة منه تعتبر مطهرة بينما الكميات الكبيرة فإنها تعتبر قاتلة . وعند مقارنة كميات متساوية من OH^- ،

H^+ نجد أن أيون H^+ له حده سمية على الكائنات الحية الدقيقة أكبر وبالنسبة للأحماض المعدنية مثل HCl ، HNO_3 ، H_2SO_4 بالرغم من قدرتها القاتلة إلا أن إستعمالها يكون محدوداً وذلك لتأثيرها الضار على الجلد والأنسجة والأدوات المعدنية وكذلك المنسوجات والأدوات والمواد المختلفة .

وبالنسبة للأحماض العضوية ، فأن تأثيرها القاتل يرجع جزئياً إلى أيونات الأيدروجين الحرة ولكن التأثير الأكبر يعود إلى الجزيئات غير المتأينة . ونظراً لأن التأثير الضار لهذه الأحماض على الجلد والأنسجة محدوداً فإنها تستعمل فى التطهير على نطاق أوسع من السابقة . ويتخلف نشاط الأحماض بإختلاف أنواعها فحمض البروبيونيك والخليك يكونا أشد تأثيراً على الفطر بينما نجد أن حمض البنزويك والساليسيليك يكونا أشد تأثيراً على البكتيريا وربما يرجع ذلك لطبيعة تركيب الجدار الخلوى لكل من الفطر والبكتيريا . ويستعمل محلول مركز من حمض البوريك كمطهر للعين لقلة ضرره على الجلد والغشاء المخاطى ، أما حمض اللاكتيك الذى ينتج أثناء التخمرات فى صناعة المخللات والسيلاج ، والألبان المتخمرة والجبن فإنه يعتبر المادة الحافظة الأساسية فى هذه المواد حيث يتميز بقوته المطهرة ضد كثير من البكتيريا خاصة المحللة للبروتين منها .

٢ - القلويات **Alkali**

تتأين القلويات فى المحاليل وينتج عن ذلك إنفراد مجموعة OH^- وهو أيون نشط . ويرجع تأثير هذه المواد إلى أيون OH^- الناتج من تأينها فى المحلول ، وبذلك يصبح المحلول قلوى غير مناسب لنمو الميكروبات . والمحاليل شديدة القلوية تؤدى إلى تحلل الخلية البكتيرية أو قتلها . ومن الملاحظ أنه كلما كان القلوى أكثر تأينا كلما كان أشد تأثيراً على الميكروبات فمثلاً KOH أكثر تأثيرا من NH_4OH حيث أن الأول يتأين بدرجة أكبر من

الثاني ويشذ عن ذلك $Ba(OH)_2$ فرغم أنه أقل تأينا من KOH إلا أنه أكثر فتكا للميكروبات ، ويعود ذلك التأثير الإضافى المهلك لأيون الباريوم .

ويستعمل كثيراً NaOH كمادة منظفة فى مصانع الأغذية والألبان وذلك فى تطهير الأجزاء المطاطة من آلة الحليب الميكانيكية بنسبة ٠,٣- ٠,٥٪ . كما يستعمل NaOH بنسبة ٥٪ فى تطهير المخازن والإسطبلات وهناك بعض المواد الأخرى كالجير الحى CaO عالية القلوية عند إذابتها فى الماء وتستعمل فى تنظيف أدوات مصانع الألبان والأغذية .

الصابون Soap عبارة عن أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم للأحماض الدهنية وهو يعتبر من المطهرات متوسطة القوة . ويعتمد تأثير الصابون على الإزالة الميكانيكية للكائنات الدقيقة من على السطوح التى تغسل به مثل الأيدى والملابس والأرضيات . كما أنه يقلل من التوتر السطحى للماء ويجعله أقدر على التغلغل فى الأشياء المغسولة وبذا يستطيع الماء أن يبلل الأشياء بسهولة ويصبح أكثر قدرة على التنظيف . هذا علاوة على قدرة الصابون على إزلة الزيوت والمواد الملوثة الأخرى وإحداثه لتفاعل قلوى .

ويزداد أثر الصابون إذا إستعمل مه الماء الساخن . وقد لوحظ أن إضافة بعض المواد المطهرة إليه تزيد من قدرته التطهيرية مثل إضافة مادة الـHexa chlorophenol بنسبة ١٪ إلى الصابون . وقد أدت الرغبة إلى إنتاج أنواع محسنة من الصابون إلى إنتاج مواد تركيبية Synthetic detergents تقلل من التوتر السطحى ذات كفاءة تطهيرية عالية تستعمل فى غسيل الملابس والأدوات المنزلية وفى مستحضرات غسيل الشعر .

٣- الصبغات Dyes

قد تستعمل الأصباغ إلى حد ما كمواد مطهرة . فمثلاً صبغات الأكريدين Acridine dyes مثل Acriflavine تستعمل فى تطهير الجروح

والأغشية المخاطية وصبغة الكريستال البنفسجي تستعمل كثيراً في علاج الإصابات الجلدية الناتجة عن البكتيريا الموجبة لجرام وكذا الناتجة عن بعض الفطريات .

٤- الكحولات : R-OH

أشهرها كحول الإيثانول C_2H_5OH وله تأثير قاتلاً إذا استعمل بتركيز ٥٠-٧٠٪ حيث يؤدى إلى تجميع البروتين coagulation المكون لبروتوبلازم الخلية . وهذا التفاعل يتم في وجود كل من الماء والكحول . وهذا يفسر بأنه باستعمال تركيزات أقل أو أعلى من النسب السابقة فإن القوة القاتلة للكحول تقل بالتدريج حتى تنعدم . والإيثانول شائع الإستعمال في تطهير الجلد ، وقدرة الإيثانول المطهرة أعلى من الميثانول ، علاوة على أن الأخير يندر إستعماله كمهطر لأنه سام ومهيج للعين . أما الكحولات الأخرى مثل البروبانول والبوتانول فإن الدراسات التى تمت عليها غير كافية ، وإن كانت تبين أن تأثيرها الإبادى أقوى من الإيثانول وهذا يعود إلى وزنها الجزيئى المرتفع . ومن المعروف أن للجسرين فعالية كبيرة كعامل مطهر إذا استعمل في صورة مركزة ويعود ذلك إلى قدرته على إنتزاع الماء من الخلايا الميكروبية أى أن له تأثير تجفيفى Dehydrating effect

٥- الألدهيدات : R-CHO

أهمها الفورمالدهيد HCHO وتأثيره القاتل يعود إلى قدرته الإختزالية وإتحاده مع المجاميع الأمينية الحرة (NH2−) لبروتين الخلية فيتوقف نشاطها ورغم أن الفورمالدهيد من العوامل الفعالة فى الإبادة والتطهير إلا أن إستعماله محدوداً لما له من تأثير سام ورائحة نفاذة غير مقبولة . وتأثير الفورمالدهيد على الفطر اشد من تأثيره على البكتيريا ويرجع ذلك لإختلاف تركيب الجدار الخلوى لكل من الفطر والبكتيريا وتأثيره على الخلايا الخضرية أكبر من تأثيره

على الجراثيم ويرجع ذلك لتركيب الجرثومة التى تحتوى علاوة على عدة جدر خارجية تحول دون دخول المادة المطهرة علاوة على أنخفاض نسبة الماء فى البروتوبلازم . ومحلول الفورمالدهيد العادى يسمى فورمالين وهو عبارة عن محلول مائى يحتوى على ٣٢-٤٠٪ فورمالدهيد بالإضافة إلى قليل من الميثانول . ومحلول ٥-١٠٪ فورمالدهيد له قوة قاتلة حتى فى وجود مواد عضوية ومحلول ٠,١-٠,٥٪ يوقف نمو الميكروبات ويستعمل الفورمالين أيضاً فى حفظ العينات والنماذج النباتية لمدة طويلة .

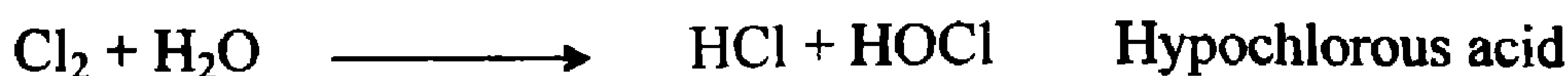
ومن الإستعمالات الهامة للفورمالدهيد تحويل التوكسين السام Toxin إلى توكسين غير سام Toxoid والأخير يستخدم بحقنه فى جسم الإنسان أو الحيوان ليكون مضادات التوكسين Antitoxin وهى أجسام مضادة تحمى الجسم من المرض – ومن الميكروبات المشهورة التى تقاوم بهذه الطريقة ميكروب Corynebacterium diphtheria المسبب للدفتريا وميكروب Clostridium tetani المسبب للتيتانوس . بالإضافة إلى الفورمالدهيد فإن بعض المواد المختزلة الأخرى لها تأثير قاتل على البكتيريا مثل حامض الكبريتوز وأملاح الكبريتيت . وبحرق الكبريت ينتج غاز ثانى أكسيد الكبريت SO_2 الذى يستعمل فى تبخير النبيذ والفواكه المعدة للتجفيف Sulphuring للمحافظة على لونها علاوة على تأثيره القاتل على الميكروبات.

٦- العوامل المؤكسدة Oxidation factors

يعود التأثير القاتل لهذه المواد إلى عملية الأكسدة التى تحدثها حيث أنها تستطيع أن تنتج أكسجين حديث التولد والذى يستطيع أن يتحد بالمكونات العضوية للخلية فيوقف نشاطها . ومن أهم المواد المؤكسدة الأكثر إستعمالاً هى الآتى :

أ- الكلور ومركباته :

الكلور ومركباته من أكثير المواد إستعمالاً فى قتل الميكروبات وعند إضافة الكلور إلى الماء يحدث التفاعل التالى :



$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl \quad \text{Hypochlorous acid}$$



$$HOCl \longrightarrow HCl + O \quad \text{Nascent Oxygen}$$

وعلى ذلك يؤثر غاز الكلور على الميكروبات بطـريقتين الأولـى بالأكسدة بالأكسجين حديث التولد الذى يتكون عند تفاعل غاز الكلـور مـع الماء . والثانى بالتفاعل المباشر حيث يتفاعل الكلور مباشرة مـع بـروتين الخلية ويتحد معها بعملية تسمى عملية الكلورة Chlorination وبذلك يوقف نشاط الخلية . ويستعمل غاز الكلور المضغوط إلى سائل فـى تعقـيم ميـاه الشرب حيث يضاف بكميات تتراوح ما بين ٠,٢٥-٢ جزء فـى المليـون حسب التقرير المبدئى لحالة المياه من الناحية الميكروبيولوجية ويحتاج الأمر إلى زيادة التركيز فى حالة وجود عدد كبير من الكائنات الدقيقة أو الممرضة أو وجود مواد عضوية حيث تتفاعل مع جزء من الكلور المضاف .

ويلاحـظ أن تـأثير الكلـور ومركباتـه مثـل الهيبوكلورينـات والكلورأمينات يقل كثيراً فى حالة وجود المواد العضوية خاصة البروتينـات حيث أن الكلور يتحد بها فيقل تأثيره .لذلك يشترط أن تنظف الأدوات قبـل تطهيرها بالكلور ، كما يجب أن يكون الماء الذى يعامل بالكلور خالياً مـن الشوائب والمواد العضوية عند معاملته . وتستخدم الكثير من مركبات الكلور فى تطهير أدوات وأجهزة معامل الأغذية والألبان وكذلك فى تطهير الميـاه المستعملة لغسيل الخضراوات ويضاف للثلج المستعمل فى حفـظ الأسـماك وفى الأغراض الطبية والبيطرية لإنخفاض الأثار الضـارة للكلـور علـى الأنسجة الحية إذا استعمل فى تركيزات تصل إلى ٢٠٠ جزء فى المليون .

ب- اليود ومركباته

يؤدى اليود فعله السام باتحاده مع البروتين الإنزيمى فى الخلية ، إذ أنه عامل مؤكسد وبالرغم من أن لليود أثر سام إذا ابتلع ومهيجاً للأنسجة الحية الرقيقة إلا أنه يعتبر من أوسع المواد انتشاراً كمطهر للجلد ويستعمل فى تطهير التسلخات وفى تطهير مواضع وأماكن العمليات الجراحية قبل إجرائها ، والتلوثات السطحية فى جسم الإنسان والحيوان . ويستخدم اليود عادة فى صورة صبغة يود بتركيز ٢٪ وهذه تحضر بإذابة ٢٠ جم يود فى ٥٠٠ سم^{٣} ماء مذاب فيه ٥٠ جم من يوديد الصوديوم ثم يخفف الحجم إلى لتر بإضافة كحول ٩٥٪ واليود له تأثير قاتل على عدد كبير من البكتيريا إلا أن البكتيريا المتجرثمة تكون مقاومة له .

ج- الفلور

أشد الهالوجينات فتكاً بالميكروبات وتضيف بعض الدول الفلوريد إلى ماء الشرب بنسبة ١ جزء فى المليون لتقليل تسوس الأسنان كما يضاف فلوريد الصوديوم إلى بعض معاجين الأسنان للوقاية من التسوس .

٧- المعادن الثقيلة Heavy metals

تحتاج بعض الكائنات الحية الدقيقة إلى كميات ضئيلة جداً من المعادن الثقيلة لنموها لذلك فإن وجود هذه المعادن فى المزارع البكتيرية بتركيزات منخفضة يكون له تأثير منشط . أما إذا زاد تركيزها عن حد معين فيكون لها تأثير مطهر وإذا زادت النسبة كان لها تأثير سام وقاتل ، والتأثير القاتل لأيونات المعادن الثقيلة راجع إلى تفاعلها مع بروتين الخلية وترسيبها له ، وعموماً فإنه بالنسبة لتأثير المعادن الثقيلة نجد أن لها تأثير سام على الكائنات الحية الدقيقة وأكثر المعادن تأثيراً هو الزئبق، الفضة ، النحاس ، وكلما كان تركيز المعدن أكبر كلما كان تأثيره السام أقوى بينما يكون

للتركيزات المنخفضة تأثير أوليجوديناميكي Oligodynamic action على الكائنات الحية الدقيقة . كذلك أشارت الإبحاث بأن كاتيونات المعادن الثقيلة لها تأثير سام أقوى من تأثير كاتيونات المعادن الخفيفة فمثلاً $AgCl_2$ تأثيره يكون أقوى من $MgCl_2$. كذلك دلت نتائج الأبحاث أن وجود المادة العضوية مع وجود البروتينات في المحلول يقلل من التأثير السام لهذه المعادن نظراً لأنها غالباً ما تتحد مع البروتينات وبذا يقل تأثيرها على الميكروبات . وهناك بعض المركبات للمعادن الثقيلة يمكن إستعمالها كمطهرات أو معقمات ومن أمثلتها :

أ- الزئبق

ومن مركبات الزئبق غير العضوية ، نلاحظ أن محلول كلوريد الزئبقيك (١/١٠٠٠) ويسمى السليماني يستعمل كثيراً في تعقيم الأجزاء النباتية والدرنات وجذور البقوليات المحتوية على العقد الجذرية عند عزل بكتيريا العقد الجذرية منها حتى لا يحدث لها تلوث خارجي . ويجب عقب التعقيم الغسيل بماء معقم حتى لا يؤثر الزئبق على البكتيريا تحت الدراسة . ونظراً لأن كلوريد الزئبقيك سام للإنسان فإن إستعماله في التطهير يكون محدوداً جداً ويعتبر أكسيد الزئبق الأصفر من مركبات الزئبق غير العضوية الذى يضاف إلى المراهم كمادة مطهرة . ولقد تم عمل مشتقات عضوية ذات سمية ضعيفة مع قدرتها الإبادية للميكروبات وذلك عن طريق خلط الزئبق بمركبات عضوية معقدة تتأين ببطء شديد جداً ومن أمثلة هذه المواد الميكروكروم Mercurochrome وهو يستعمل كمطهر للجلد والجروح بنسبة ٢٪ وهو أفضل هذه المركبات وإن كان أقل تأثيراً من اليود .

ب- الفضة

كذلك تستعمل أملاح الفضة بكثرة في التطهير ، ومن أمثلة مركبات الفضة المعدنية نترات الفضة التي تستعمل كقطرة للعيون بتركيز واحد في الألف وإن كان يعاب عليها إرتفاع ثمنها وتأثيرها المهيج للأنسجة . ومن مركبات الفضة العضوية التي تصنع على شكل غروى هي الأراجيرول ، البروتاجول هي عبارة عن بروتينات مرتبطة بالفضة والتي تمتاز بأن تأثيرها المهيج ضعيف ولذلك تستعمل بكثرة كمطهرات .

ج- النحاس

تستخدم كبريتات النحاس بكثرة لقتل الميكروبات خاصة الطحالب ولذلك تضاف إلى مياه الشرب في الخزانات والبحيرات بنسبة ١ جزء في المليون للتخلص من الطحالب ويراعى عند مقاومة الطحالب في البحيرة التي بها أسماك أن تستعمل كميات قليلة من كبريتات النحاس حتى لا تؤدى إلى قتل ما تحتويه البحيرة من أسماك وأحياء بحرية . كذلك يستعمل محلول بوردو وهو يحتوى على كبريتات النحاس لمقاومة الكثير من أمراض النبات الفطرية.

د- الزنك

تستعمل أملاح الزنك مثل أكسيد الزنك في تحضير المراهم وقطرات العيون.

هـ- الزرنيخ

تستعمل مركبات الزرنيخ ضد الأمراض المتسببة عن البروتوزا ، السبيروكيتا Spirochetes ، والتريبانوسوما Trypanosomes ، ويتميز المركب المحتوى على الزرنيخ والمسمى Sulvarsan 606 بفاعليته الشديدة للميكروب المسبب لمرض الزهرى *Tryponema pallidum* .

٨- الفينول Phenol C_6H_5OH

ينتج الفينول من نواتج التقطير الإتلافى للخشب والقــار والفحــم . ويعتبر الفينول (حامض الكربونيك) المبيد الأساسى الذى تقارن به المبيــدات الأخرى ، ويعود تأثيره القاتل إلى أنه يتفاعل مه بروتين الخلية . ويســتخدم الفينول كمادة قاتلة للمكيروبات فى محاليل مائية تركيزها يتراوح بين ٢-٥٪ وهو مركب ثابت له تأثير قوى على الخلايا البكتيرية الخضرية والفطــر - غير أنه قليل التأثير بالنسبة للجــراثيم الفطريــة والبكتيريــة والفيروســات ويضعف تأثيره فى وجود المواد العضوية حيث يتحد معها كيماوياً وذلك فى وجود المواد الدهنية .

ولقد كان الفينول شائع الإستعمال فى الماضى كمطهر ولكن بســبب إرتفاع ثمنه ورائحته النفاذة فضلاً عن آثاره السامة ، فإن اســتعماله أصــبح محدوداً وإن كان ما زال شائع الإستعمال فى المستشفيات والعيادات الطبيــة وعنابر مصانع الأدوية ومن مشتقات الفينــول ذات القــوة القاتلــة العاليــة الكريزول Cresol .

و الكريزول $CH_3\text{-}C_6H_4OH$ من مشتقات الفينول إلا أنه يتميز بشدة فعاليته وان قوته الإبادية عالية وهو يؤثر على نفس الأنواع مــن الكائنــات الحية الدقيقة التى يؤثر عليها الفينول . والكريزولات تتميز بانهــا تحــتفظ بقوتها فى وجود المواد العضوية غير أنها مثل الفينول ضعيفة التأثير بالنسبة للجراثيم البكتيرية والفطرية والفيروسات . ويلاحظ أن الكريزول المســتعمل هو عبارة عن أرثو وميتا وبارا كريزول ويطلق اسم الليزول Lysol علــى أحد مستحضرات الكريزول التجارية . ونظراً لأن الكريزولات تتميز بقلــة ذوبانها فى الماء فانها تضاف إلى الصابون بالإضافة إلى كمية بسيطة مــن أحد القلويات التى تقوم بعملية التصبن .

٩- المواد العلاجية Chemotherapeutic drugs

من المجاميع الكيماوية التى تستعمل داخلياً فى علاج الأمراض البكتيرية فى جسم العائل مركبات السلفانيلاميد والمضادات الحيوية . وعموماً فإنه يجب أن يتوفر فى المواد التى تستعمل داخلياً كمواد علاجية Chemotherapeutic drugs المواصفات الآتية :

١- أن تكون قادرة على إبادة الطفيل أو إيقاف نشاطه دون الإضرار بخلايا العائل .

٢- أن تكون لهذه المواد القدرة على الإمتصاص والدخول إلى الخلية البكتيرية بدرجة أكبر من الخلية الحيوانية حتى لا تكون خلايا العائل معرضة للتأثير الضار .

٣- أن تكون على درجة عالية من الثبات بحيث لا تفسد من تأثير سوائل الجسم الغنية بالبروتينات .

٤- أن لا تؤثر على وسائل جسم العائل الدفاعية مثل كرات الدم البيضاء والأجسام المضادة .

ومن هذه المواد نذكر على سبيل المثال لا الحصر الآتى :

أ- مركبات السلفا Sulfa-containing compounds

بدأ إكتشاف هذه المركبات ١٩٣٥ وهى تعتبر من أول المركبات العضوية التركيبية التى استعملت داخلياً فى علاج الأمراض البكتيرية بجسم العائل . ويعتبر مركب P-aminobenzene sulfonamide المعروف باسم السلفانيلاميد Sulfonamide من أول المركبات التى إكتشفت فى هذا المجال. ومركبات السلفانيلاميد توقف نمو البكتيريا دون أن تقتلها وعند تناولها فإنها توقف نمو الميكروب الممرض بجسم العائل ، وبذلك تسهل لأجهزة المقاومة بالجسم مثل كرات الدم البيضاء والأجسام المضادة التخلص من الميكروب .

وتأثير مركبات السلفانيلاميد على الميكروبات يعود إلى أنها تعتبر مركبات تنافسية لحمض البارامينوبنزويك، فتتحد بإنزيمات التمثيل الغذائى بدلاً من الحمض المذكور نظراً لتشابهها معه فى التركيب وهذا ما يسمى Competitive inhibition

ونظراً لما لمركبات السلفانيلاميد من قيمة علاجية فقد حضر منها مركبات لإستعمالها للعلاج و يرجع تركيبها أساساً إلى المركب السلفانيلاميد بإستبدال ذرات الأيدروجين فى مجموعة الأمين بمركبات أخرى ومن أمثلة هذه المركبات السلفانيلاميد (المركب الأساسى لمركبات السلفا) ويستعمل ضد الميكروبات السبحية *Streptococcus* spp. . ويستعمل السالفابيريدين Sulfapyridine ضد الإلتهاب الرئوى *Pneumoniae* . ويمتاز مركب سالفاديازين Sulfadiazine بإتساع مجال فعاليته وهو يستعمل ضد الحمى الشوكية النخاعية والسيلان ، الإلتهاب الرئوى وإلتهاب اللوز . ومركب سلفاثيازول Sulfathiazole يستعمل ضد السيلان . ويستعمل مركب سلفاجوانيدين Sulfaguanidine ضد الإرتباك المعوى الناتج عن البكتيريا السالبة لصبغة جرام التابعة لعائلة Fnterobactriaceae

ب- مضادات الحيوية Antibiotics

مضادات الحيوية هى عبارة عن مواد كيماوية عضوية ذات وزن جزيئى مرتفع تفرزها بعض الأحياء الدقيقة مثل البكتيريا والأكتينوميستات والفطر نتيجة عملية التمثيل الغذائى Metabolic products التى تقوم بها وهذه المواد تبيد أو توقف نمو كائنات دقيقة أخرى . ويعود تأثير هذه المركبات على الميكروبات إلى أن بعضها يؤثر على عملية الإنقسام والبعض يؤثر فى التنفس ، والبعض الأخر يؤثر على عمليات التمثيل الغذائى بالخلية. فمثلاً يؤثر البنسلين على تكوين الجدار الخلوى للخلايا النامية مما يؤدى إلى

منع عملية الإنقسام وإلى إستطالة الخلية كما يؤثر على درجة نفاذية الغشاء السيتوبلازمى ويمنع تمثيل البروتين بالخلية . أما الإستربتوميسين فإنه يثبط عملية التنفس بالخلية وخصوصاً دورة حامض الستريك . والكلورامفينيكول ومركبات التتراسيكلين يؤثران على عملية التنفس وعلى عملية تمثيل البروتين بالخلية ويقوم Bacitracin بالتأثير على الغشاء الخلوى مما يسبب تحلل الخلية . وهكذا فإننا نجد أن لكل مضاد حيوى التأثير الخاص به مما يثبت تخصصية التأثير .

ويرجع الفضل فى أكتشاف هذه المركبات إلى العالم البريطانى Alexandre Fleming سنة ١٩٢٩ الذى أكتشف البنسلين من الفطريات ثم توالت بعد ذلك الإكتشافات التى كان من أهمها ما قام به Solman Waksman وزملائه سنة ١٩٤٠ من تحضير الإستربتوميسين من الأكتينوميستات . ولقد أمكن بعد ذلك تحضير الكثير من مضادات الحيوية بحالة نقية بواسطة الميكروبات كما أمكن تحضير بعضها بطرق تخليقية معملياً .

ونظراً لأهمية مضادات الحيوية العظيمة من حيث قيمتها العلاجية للإنسان والحيوان فقد ظهر العديد منها نتيجة للبحوث العلمية التى أجريت وتلك التى مازالت مستمرة فى موضوع التضاد بين الميكروبات . ويتجه البحث دائماً إلى إكتشاف مضادات حيوية جديدة ذات فعالية عالية ضد الميكروبات خصوصاً تلك التى أصبحت لا تتأثر بالمضادات التى كانت شائعة الإستعمال ، نتيجة تكون طفرات جديدة مقاومة لها . ويجب أن نأخذ فى الإعتبار أن لجميع مضادات الحيوية أثاراً سامة محدودة على الإنسان والحيوان . هذا علاوة على أن بعضها يسبب مشاكل للإنسان من حيث حساسية بعض الأفراد لها كما أنها تسبب قتل الميكروفلورا النافعة الموجودة طبيعياً بالقناة الهضمية التى تقوم بتجهيز الفيتامينات اللازمة للجسم مما يلزم

إعطاء المريض كميات كافية من الفيتامينات اللازمة للجسم خاصة التابعة لمجموعة ب مما يؤكد ضرورة إستعمال مضادات الحيوية بحرص شديد وتحت وإشراف طبى . وكلما كان المضاد المستعمل ذو مجال ميكروبى متسع Wide spectrum أى يؤثر على عدد كبير من الميكروبات مثل البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام والفيروسات والبكتيريا الصامدة للأحماض ... ألخ كلما كانت له قيمة علاجية كبيرة .

ومن الملاحظ أن كثيراً من الأنواع كالبكتيريا والإستربتوميسيتس والفطر التى تنتج مضادات الحيوية تعيش جميعها بالتربة ويمكن عزلها بحالة نقية للأغراض المختلفة وأول مضادات الحيوية المعروفة هو البنسلين Penicillin والذى ينتجه فطر *Penicillium notatum* حيث وجد له دور فعال فى علاج نزلات البرد وبعض الأمراض الأخرى سواء للإنسان أو للحيوان ومعظم مضادات الحيوية الفعالة والمعروفة بقيمتها العلاجية تنتجها أجناس ميكروبية مثل *Penicillium* ، *Bacillus* ، *Streptomyces* ولقد وجد أن بعض سلالات *Staphylococcus aureus* التى لا تحتاج للأحماض الأمينية فى نموها تكون مقاومة للبنسلين بينما التى تحتاج للأحماض الأمينية فقد وجد أنها حساسة للبنسلين .

ولقد وجد أن البنسلين يثبط تكوين الجدار الخلوى وخاصة أنه يتعارض مع إدخال Acetymuramic acid فى بناء الجدرا الخلوى وبذلك لا يتم تخليق الميكوببتيد . ولقد ثبت أن الخلايا العصوية الحساسة للبنسلين ينتج نتوء فى جدار الخلية والتى يندفع منها السيتوبلازم ويحدث له تحلل وتلف للخلية ويلاحظ أن الخلايا النامية فقط هى التى تتأثر بالبنسلين حيث ان الخلايا النامية هى التى تخلق جدرها الخلوية . هذا وتعتبر كل خلايا الإيوكاريوتات Eucaryotic cells مقاومة تماماً للبنسلين نظراً لأنها لا تمتلك

الميكوببتيد فى جدرها الخلويــة . ويلاحــظ أيضــا أن المضــاد الحيــوى Cephalosporin يعمل بطريقة مماثلة للبنسلين على الجدر الخلوية للبكتيريا. بينما الطريقة التى يؤثر بها الإستربتومبسين Streptomicin أنه يحدث ضرر للغشاء الخلوى ويتداخل مع وظيفة الريبوسومات فى بناء البروتين .

الفصل العاشر :
تقسيم البكتيريا والأهمية الإقتصادية

تقسيم البكتيريا أهميتها الإقتصادية

Bacterial taxonomy and economic importance

أولاً : تقسيم البكتيريا Bacterial Taxonomy

يختص علم التقسيم Taxonomy بثلاثة مباحث هي :

المبحث الأول : هو تحديد ماهية وضع مجموعة الكائنات الحية تحت الدراسة بين الكائنات الحية عموماً أى ما يسمى Systematic position

المبحث الثاني : يختص بكيفية تسمية أفراد هذه المجموعة من الكائنات موضع الدراسة .. أو ما يسمى Nomenclature

المبحث الثالث : وهو كيفية ترتيب الأفراد المسماة ، فى وحدات تقسيمية taxa (Sing. taxon) أو مجاميع بطريقة منظمة تبين درجة التقارب فى صفات معينة بين أفراد الوحدة التقسيمية كما توضح أيضاً درجة الإختلاف أو التباعد بين مجموعة ومجموعة أخرى .. وهذا هو ما يسمى بالتصنيف Classification

وفى الدراسات البيولوجية بصفة عامة لا يمكن الفصل بين التسمية Nomenclature والتصنيف Classification حيث يعتمد كل منهما على الآخر وقبل أن نخوض فى دراسة تصنيف البكتريا لا بد أن نتعرض بإلقاء الضوء على كل من الوضع التقسيمى لها بين عوالم الأحياء وكذلك كيفية التسمية للبكتريا.

أولاً : الوضع التقسيمى للبكتريا Systematic Position of Bacteria

ظلت البكتريا لمدة طويلة منــذ إكتشــافها بواســطة Antony Van Leeuwenhoek (1723-1632) وكان تاجر وصانع عدسات هولندى نابغة إذ كان يهوى صناعة العدسات ويركبهــا علـــى أجــزاء معدنيــة ، وإكتشــف الميكروبات Microorganisms " Microbes " ولم يكن يعم عنها شيئاً ســـنة ١٦٧٢ ثم أرسل برسوماته لهذه الأحياء الدقيقة إلى الجمعية الملكية فى لنـــدن R.S.L حيث كانت الجهة المسئولة عن تقدم العلوم فى ذلك الوقت .. ولم تدع هذه الرسومات مجالاً للشك من أنه شاهد الأحياء الدقيقة من خلال العينات التى كان يفحصها .. وفى سنة ١٦٨٢ أعتبر ليفنهوك المكتشف الحقيقى للميكروبات وبعثت له ملكة إنجلترا فى ذلك الوقت وكرمته. وكان قبل ذلك يشار لها علـــى أنها حيوانات وضمت مع البروتوزوا Protozoa حيث إعتبرها عالم الحيــوان الدنماركى مولر Müller في مؤلفة سنة ١٧٧٣ ، وأيضــاً عــالم البيولوجيــا الألمانى إرنبرج Ehrenberg فى موسوعته التقسيمية للبروتوزوا سنة ١٨٣٨.

ولكن قبل نهاية القرن التاسع عشر تغيرت النظرة للبكتريا وإعتبرت على أنها كائنـــات نباتيــة بدائيــة ، وتلـــى ذلــك أن قــام عـــالم النبـــات (الميكروبيولوجيا) الألمانى كون Cohn بعمل أول تقســيم للبكتريـــا حيـــث إعتبرها مجموعة مميزة ومختلفة تماماً عن البروتوزوا ونشرة ســـنة ١٨٧٢ وأعيد نشرة مرة أخرى فى عام ١٨٧٥. وفى ذلك الحين ظهرت عدة أنظمة تقسيمية للبكتريا ولكنها جميعاً لم تقبل على المستوى العالمى.

ولقد تقدم Ernst Haeckel وهو أحد تلاميــذ داروين Darwin ســـنة ١٨٦٦ بإقتراح خلق مملكة جديدة أسماها Kingdom Protistae بالإضـــافة إلى المملكتان الكبيرتان المعروفتان Animalia & Plantae وذلك للهــروب من الإنتقادات التى كانت توجه لوضع الكائنات الدقيقة فى أى من المملكتان.

وظهر فى عامى ١٨٩٩ ، ١٩٠١ كتاب قيم يسمى Determinative Bacteriology بواسطة Prof. D.F. Chester للتصنيف ولم يغير من وضع البكتريا فى عوالم الأحياء ، وهذا الرجل هو الذى قاد تكوين الـSAB التي صارت الآن ASM. وفى الإجتماع السنوى لجمعية البكتيريولوجيين الأمريكان SAB فى مدينة Urbana سنة ١٩١٥ فوضت الجمعية العالم C.E.A. Winslow والذى كان رئيسا للجمعية أن يقوم بوضع نظام جديد لتصنيف وتسمية البكتريا وتم تقديم تقرير جيد فى إجتماعها سنة ١٩١٦ ونشر سنة ١٩١٧ وآخر تقرير نشرته الجمعية سنة ١٩٢٠.

ثم تشكلت لجنة جديدة من هذه الجمعية برئاسة D.H. Bergey (1937-1860 David Hendricks Bergey) بقصد إخراج هذا التصنيف فى صورة أكثر صلاحية من ناحية التطبيق العملى. وفى سنة ١٩٢٣ نشر هذا النظام فى صورة كتيب سمى "كتيب تمييز البكتريا" Manual of Determinative Bacteriology – ولقد أعيد نشر هذا الكتيب على فترات متتالية بعد إدخال التعديلات الملائمة في أعوام 1939, 1948, 1934, 1930, 1925 برئاسة D.H. Bergey وفى سنة ١٩٥٧ ظهرت الطبعة السابعة منه بإشتراك ٩٤ عضواً من العلماء المتخصصين برئاسة Robert S. Breed وفى هذه الطبعة عُدل تقسيم المملكة النباتية إلى شعبها لأقسامها الأربعة على النحو التالى (عام ١٩٤٨ طبقاً للطبعة السادسة من كتيب برجى لتمييز البكتريا) :

Kingdom : Plantae

Division 1 : Spermatophyta : ذات بذور وأزهار

Division 2 : Bryophyta :

e.g. Mosses & liver worts الحزازيات

Division 3 : Pteridophyta

e.g. Ferns السراخس

Division 4 : Thallophyta

الثالوسيات : ليس لها جذور أو سوق أو أزهـــار أو أوراق وهـــى بســيطة التركيب وتشمل الآتى :

4a : Subdivision (subphylum) I. Algae

تحت شعبة الطحالب : وهى نباتات قد تكون وحيدة الخلية أو عديدة الخلايـــا وتحتوى على كلوروفيل وتنقسم إلى الصفوف الخمسة التالية :

Class 1 : Chlorophyceae

Class 2 : Myxophyceae

Class 3 : Phaeophyceae

Class 4 : Rhodophyceae

Class 5 : Bacillariophyceae

4b : Subdivision (subphylum) II : Fungi الفطريات

وهى نباتات وحيدة الخلية أو عديـــدة الخلايـــا ولا تحتــوى علـــى الكلوروفيل مثل الخمائر والفطريات وتنقسم إلى الصفوف الستة التالية :

Class 1 : Basidiomycetes

Class 2 : Ascomycetes

Class 3 : Deuteromycetes

Class 4 : Phycomycetes

Class 5 : Myxomycetes

Class 6 : Schizomycetes

أما في الطبعة السابعة من كتيب برجى لتمييز البكتريا

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ١٩٥٧ عام

فقد تم إستحداث القسم الخامس وهو Division : Protophyta وتسمى قبيلة النباتات الدنيئة وتشمل الطحالب الخضراء المزرقة والبكتريا والفيروسات وهو يضم الآتى :

الطحالب الخضراء المزرقة Class 1 : Schizophyceae

الفطريات التى تتكاثر بالإنقسام الثنائى Class 2 : Schizomycete

أصغر الكائنات الحية وحتمية التطفل Class 3 : Microtatobiotes

والصف الثالث قد يشار له أحيانا بالـ micro-organisms وتم تخصيصه ليضم الآتى :

Order I : Rickettsiales

Order II : Virales

ولابد من الإشارة إلى أنه فى الثلاثينات من القرن الماضى تقدم H.F. Copeland بإقتراح مملكة أسماها Kingdom : Monera لتضم الطحالب الخضراء المزرقة والبكتريا ، ومملكة أخرى أسماها Kingdom : Protista لتضم بقية الطحالب والفطريات والخمائر والبروتوزوا. وفى هذا الوقت إبتكر E. Chatton إصطلاحين وهما : Eucaryotic and Procaryotic ليعبر بهما عن الإختلافات فى التنظيم الخلوى (التعضية) بين البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة من جهة ، وبين جميع الكائنات الأخرى من جهة ثانية.

وفى عام ١٩٦٧ إقترح Von Arx عالم الفطريات الهولندى خلق مملكة أسماها Kingdom Mycota (Fungi) توضع بها الفطريات جميعها وكذلك الكائنات الشبيهة بها والتى كانت مشكوكاً فى قرابتها مثل Acrasiomycetes ، Labyrinthulomycetes وبذا تكون مملكة متعددة الأسلاف Polyphyletic.

وفى عام ١٩٦٨ إقترح عالم البكتيريولوجيا الكندى Murray إنشاء مملكة جديدة أسماها مملكة البروكاريوتات Kingdom Procaryotae لتضم البروكاريوتات وهى البكتيريا والطحالب الخضراء المزرقة.

ثم جاء كوبلاند Copland عام ١٩٣٨ بتقريره عن الأربعة ممالك وهو يتاكر Whittaker عام ١٩٦٩ بتقريره عن الخمسة ممالك : Plantae , Animalia, Protista, (Mycota) Fungi, Monera (Procaryotae) ولقد إستند النظام خماسى الممالك على التنظيم الخلوى والأنماط الغذائية وحاز قبولاً واسعاً.

ولقد عنى نظام هويتاكر خماسى الممالك بالكائنات الدقيقة الخلوية Cellular Microorganisms وإستبعد غير الخلوية noncellular ones والتى تشمل : الفيروسات Viruses ، الفيرويدات Viroids والبريونات Prions.

ولكن هناك من رأى خلق مملكة سادسة لتضم الفيروسات والفيرويدات ولو أن ذلك يلقى إعتراضات كثير من العلماء الذين يرون أن الفيروسات والفيرويدات والبريونات ليست كائنات organisms أى تنتفى عنها صفة الكينونة نظراً لأنها لا توجد فى الطبيعة على صورة خلوية cellular.

على هذا يكون كارل فون لينيه Linnaeus قد رسخ النظام ثنائى الممالك لعوالم الأحياء وذلك عام ١٧٥٣ ثم وصل الأمر على يد هويتاكر عام ١٩٦٩ بالنظام الخماسى الممالك ، وبعده هناك من يرون سداسية وسباعية العوالم.

على الجانب الآخر كان هناك من يرى تقسيم جميع الكائنات إلى مملكتين عظيمتين 2 Super Kingdoms فأوصى Allsopp عام ١٩٦٩ بإنشاء المملكتين العظيمتين : Eucaryote, Procaryotae لهذا الغرض. لكن علماء البكتيريولوجيا إقتنعا فقط من جانبهم بقصر مملكة البروكاريوتات Procaryotae لتضم الكائنات البروكاريوتية وهى البكتريا والطحالب الخضراء

المزرقة. وبطبيعة الحال فإن تجميع كل الأيوكاريوتات eukaryotes في مملكة واحدة سوف لا يناسب علماء كل من الحيوان والنبات.

ولقد صدرت الطبعة الثانية من كتيب برجي لتمييز البكتريا عام ١٩٧٤ متضمنة للإقتراح المقدم من R.G.E. Murray الكندى بمملكة البروكاريوتات والتى يمكن إيجاز تصنيفها على النحو التالى :

Division I : Phototrophic Procaryotes (Photobacteria).

وتمثل البكتريا الممثلة للطاقة الضوئية وتشمل :

Class 1 : Blue green Photobacteria (Cyanobacteria)

Class 2 : Red Photobacteria

Class 3 : Green Photobacteria

Division II : Procaryotes indifferent to light (Scotobacteria) :

وهذه تشتمل على البكتريا غير الممثلة للطاقة الضوئية وتشمل :

Class 1 : The bacteria

Class 2 : Obligate intracellular scotobacteria in eucaryotic cells (Rickettsias)

Class 3 : Scotobacteria without cell walls Mollecutes (Mycoplasmas).

ولحد كبير فإن هذا التنظيم أظهر بوضوح وضع البكتيريا بين الكائنات الحية عموماً.

ثانيا : التسمية Nomenclature

قام عالم النبات السويدى كارل فون لينيه Carl Von Linne (Carolus Linnaeus ١٧٠٧-١٧٧٨) في أواخر القرن الثامن عشر وتحديداً فى سنة ١٧٦٠ بوضع نظام وأسس التسمية والتقسيم والتى سميت بالنظام المزدوج (الثنائى) للتسمية Binomial system والذى وُضع خصيصاً لتسمية

النباتات – وقام بنشـر مـرجعين هـامين همـا : , Species plantarum Systema natura – ثم أتبع هذا النظام فيما بعد لتسمية الحيوانات والكائنات الدقيقة ومنها البكتيريا ولا زال متبعاً حتى الآن.

ولقد إصطلح سنة ١٩٠٣ على إتباع الكود النباتى والذى شمل اللوائح والنظم الخاصة بتسمية وتقسيم النباتات) وفى سنة ١٩٤٧ أنشـىء أول كـود بكتيريولوجى International Bacteriological Code أثناء إنعقـاد الجمعيـة الميكروبيولوجية الدولية فى كوبنهاجن بالدانمارك. وإشتمل هذا الكـود علـى نظامين من التسمية الأول هـو Common, Vernacular or Trivial Names وهو ذات طابع محلى وتختلف حسب لغة البلد. والنظام الثانى هو Scientific Names وهى الأسماء ذات الطابع الدولى يستعملها العلماء جميعاً مهما إختلفت لغاتهم ، وتكوين هذا النوع من الأسماء يُراعى فيه نظام معين متفق عليه دولياً طبقاً للمبادىء والقوانين التى جاءت بـالكود البكتيريولـوجى المقتـرح عـام ١٩٤٧، وتبعاً لذلك فإن : البكتيريا المتشابهة والمتطابقة تماماً تكون ما يسـمى بالنوع Species. وتبعاً لنظام التسمية المزدوج فإن كل نوع بكتيـرى يطلـق عليه إسم مكون من كلمتين (إسمين) Binomial كل منهما يجـب أن تكـون لاتينية أو إغريقية أو مشتقة من أصل لاتينى – إغريقى ، وإن لم تكن كـذلك فيجب أن تعامل معاملة لاتينية أو إغريقية (يونانية).

ويكتب أول حرف من الكلمة الأولى (إسم الجنس Genus) بالحرف الكبير Capital letter وقد يكون إسم الجنس مذكراً مثـل Micrococcus, Bacillus أو مؤنثـا مثـل Salmonella, Pasteurella أو محايـداً مثل Corynebacterium, Clostridium.

بعض الأسماء الخاصة بالأجناس قد تكون أسماء لبعض الأشخاص تخليـداً لذكراهم وفى هذه الحالة يعامل الإسم معاملة لاتينية مثل :

١- Brucella : تخليداً لـ Sir David Bruce وهو أول من تعرف على الكائن المسبب لمرض الحمى المتموجه Undulant fever.

٢- Bordetella : تكريما لـ Jules Bordet حيث أنه ومعه O. Gengou أول من عزلا الكائن المسبب لمرض الشهقة (السعال الديكى) Pertussis.

٣- Francisella : صيغ إشتقاقا من إسم Edward Francis وهو بكتيريولوجى أمريكى له دراسات رائدة على هذه الكائنات التابعة للجنس ومنها مسبب مرض التيولاريميا tularemia فى الإنسان وكثير من الحيوانات ذوات الدم الحار حيث يتم إنتقال المسبب المرضى (F. tularensis) عن طريق blood-sucking arthropods, inhalation, ingestion and contact.

٤- Pasteurella : تكريما لـ Louis Pasteur عالم البكتيريولوجيا الفرنسى.

٥- Neisseria : تخليداً لـ Dr. Albert Neisser الذى إكتشف الميكروب المسبب لمرض السيلان gonorrhea فى سنة ١٨٧٩ .

والكلمة الثانية في الإسم العلمى الثنائى تشير إلى النوع البكتيرى وتعرف بالـ specific epithet لا يكتب حرفها الأول كبيراً – وهى إما أن تكون :

١- صفة تؤثر على الإسم السابق لها فى درجته بمعنى أنها تتبعه فى الدرجة gender فالمؤنث مثل Sarcina alba ، المذكر مثل Bacillus albus والمحايد مثل Bacterium album

٢- صفة في صورة إسم فاعل Present participle مثل :

Bacillus coagulans ⟶ coagulating bacillus

Clostridium dissolvens ⟶ dissolving clostridium

Bacillus adherens ⟶ adhering bacillus

Pseudomonas fluorescens ⟶ fluorescing pseudomonas

٣- إسم في حالة المضاف إليه ويعطى صفة الإضافة أو التملك مثل :

Streptococcus lactis ⟶ Streptococcus of milk

Brucella abortus ⟶ Brucella of abortion

Salmonella pullorum ⟶ Salmonella of chicks
(chickens)

Clostridium welchii ⟶ Welch's clostridium

٤- أن يكون إسما للتوضيح عن طبيعة إسم أو طبيعـة الميكـروب ولـيس شرطا أن تتبع الكلمة الأولى من ناحية الجنس مذكرا أو مؤنثا مثل :

Rhizobium phaseoli Bean group فاصوليا وفول

Phaseolus : generic name of the bean, phaseoli of Phaseolus

Rhizobium trifolii : Trifolium is the generic name of clover; trifolii of clover.

R. lupini : Lupinus is the generic name of lupine; lupini of *Lupinus*.

Streptomyces scabies ⟶ scab Streptomyces

Bacillus radicicola ⟶ root dweller bacillus

٥- إسم يوضح مكان تواجد الميكروبات مثل :

Escherichia coli ⟶ coli of colon

Rickettsia canada Canada, the country where organism was first isolated

هذا ويمكن إضافة كلمة ثالثة إلى الإسم العلمى الثنائى ليشير إلى مؤلف الإسم الثنائى وليست إلى مكتشف الميكروب كما قد يعتقد البعض مثل:

Bacillus subtilis Cohn, Bacillus coagulans Hammer

وقد يوجد أكثر من كلمة واحدة عقب الإسم العلمى الثنائى ، وتكون الأولى منها بين قوسين كما يلى : *Erwinia carotovora* (Jones) Holland

معنى ذلك أن Jones هو أول من سمى الميكروب وأعطاه الإسم النوعى Specific epithet ولكنه كان قد وضعه تحت جنس آخر - لكن Holland هو الذى وضع هذا النوع تحت جنس *Erwinia*.

Staphylococcus aureus (Rosenbach) Winslow & Rogers

وأحيانا يقسم النوع Species إلى أصناف أو سلالات Varieties or Strains وذلك عندما تكون الإختلافات بسيطة بين أفراد النوع ولا تكفى لوضعها فى أنواع مستقلة مثل :

1- *Streptococcus faecalis var. liquefaciens*, i.e.
a gelatin liquefying variety of a faecal Streptococcus
2- *Streptococcus lactis var. maltigenes*, i.e.
a malty flavor producing variety of a milk streptococcus
3- *Micrococcus pyogenes var. aureus*.

ثالثا : التصنيف Classification

قبل أن نتعرض لدراسة تصنيف البكتيريا لا يفوتنا أن نلخص بعض الصعوبات التى أخرت تقدم هذه النوعية من الدراسة فى الآتى :

١- تعدد وفروع علم البكتيريولوجيا حيث يوجد منها الفروع الآتية :

General Bacteriology, Food & Dairy Bacteriology, Agric. Bacteriology, Medical Bacteriology and Industrial Bacteriology وهكذا .. حيث أن لكل فرع أثره على طرق التسمية nomenclature والتصنيف classification.

٢- صعوبة جمع عينات البكتيريا والإحتفاظ بها بحالة طبيعية لمدة طويلة دون أن يطرأ عليها تغيرات ، الأمر الذى لا يحدث بعينات النبات والحيوان، حيث أن هذه الكائنات الدقيقة تكون عرضه للتغيرات فى تركيبها الجينى نتيجة لسرعة التكاثر. حيث يمثل نمو وإنقسام الخلايا البكتيرية عملية دورية cyclical ، وكل خلية جديدة تتكون تصبح ذات قدرة على التكاثر .. بمعنى أن الخلايا الجديدة الناتجة عن الإنقسام تمتلك الخصائص الفسيولوجية التى كانت تميز آباتها القادرين على التكاثر. حيث أنه بتلقيح بيئة غذائية بخلية بكتيرية واحدة فإنها تبدأ فى الإنقسام إلى خليتين وتستمر الخلايا الجديدة الناتجة فى الإنقسام المتكرر ، والوقت الذى ينقضى بين تكوين الخلية وإقدامها على الإنقسام يعرف بالوقت الجيلى generation time. وفترة الوقت الجيلى تعتمد على عدة عوامل – منها السلالة الميكروبية ، تركيب البيئة الغذائية ، درجة الحرارة و عمر المزرعة. ويختلف الوقت الجيلى بدرجة كبيرة بإختلاف النوع البكتيري تحت الظروف البيئية المثالية – فيتراوح عموماً بين ٢٠ دقيقة أو أقل إلى عدة ساعات – فإذا بدأنا بخلية واحدة – فإن :

عدد الخلايا بعد الجيل الأول = ١ x ٢

عدد الخلايا بعد الجيل الثانى = ١ x $(٢)^{٢}$

عدد الخلايا بعد الجيل الثالث = ١ x $(٢)^{٣}$

عدد الخلايا بعد الجيل الرابع = ١ x $(٢)^{٤}$

عدد الخلايا بعد عدد "ن" من الأجيال = ١ x $(٢)^{ن}$

لكنه فى الواقع لا تبدأ المزارع البكتيرية بخلية واحدة – بل تبدأ بعـــدد من الخلايا يتراوح بين $(١٠)^{٣}$ – $(١٠)^{٦}$ خلية – إذن عدد الخلايا بعد عـــدد "ن" من الأجيال = "a" x $(٢)^{ن}$ حيث "a" هو عدد الخلايا فى اللقاح المستعمل.

ولتوضيح صعوبة الإحتفاظ بالعينة البكتيرية مدة طويلة بدون تغيير نأخذ مزرعة من ميكروب Serratia marcescens كمثال فهى تنتج صبغة حمراء متألقة ، ممكن أن يظهر على أطباق الزرع المتكرر منها بعض المستعمرات colonies البكتيرية البيضاء (عديمة اللون) ، والتـــى تتشـــابه تمامـــاً مـــع المجموعات المنتجة للصبغة ، فكلا الخلايا البكتيرية فى كلا الطرازين مـــن المستعمرات colonies لها نفس الصفات ، فقط الإختلاف هو فـــى فقـــدان المجموعات الجديدة (المتغيرة) فى إنتاج الصبغة. علاوة على ذلـــك ، فـــإن السلالة الجديدة والتى فقدت خاصية إنتاج الصبغة يمكـــن لـــبعض أفرادهـــا بتكرار الزرع أن تعود ثانياً منتجة للصبغة.

وظاهرة فقدان صفة معينة مميزة لنوع بكتيرى ثم رجوعهـــا ثانيـــاً تسمى بالتطفر العكسى reverse mutation ، ويطلق علـــى تلـــك الأفـــراد (السلالة) "طفرة راجعة أو عكسية reverse mutant". وهذا التطفر يحـــدث طبيعيا ، وبصفة تلقائية spontaneous معظم أنواع الطفرات الطبيعية تحدث تلقائيا بالطبيعة بمعدل يتراوح بين ١ x $١٠^{-٤}$ – ١ x $١٠^{-١٠}$. ولو أن معدل التطفر فى صفة تلون المستعمرات colonies يتراوح بين ١ x $١٠^{-٣}$ – ١ x $١٠^{-٧}$ .. وتسمى طفرات تلوينية pigmentation mutants. وتفتقر الطفرات التلوينية عادة إلى الثبات حيث ترتد إلى أصلها بعد عدة أجيال متعاقبة مـــن النمو. والتطفر mutation يحدث بمعـــدل يســـمى معـــدل التطفـــر/خليـــة بكتيرية/دورة إنقسامية. ويندر فى الطبيعـــة مشـــاهدة الطفـــرات التلقائيـــة spontaneous mutants إلا إذا كانت البيئة وظروفها تسمح بتـــأقلم الطفـــرة

المتكونة طبيعيا فى المجموع الذى تنشأ فيه ، وإلا فتكون فرصة بقاء الطفرة وتأقلمها قليلة جداً بحيث تمر دون ملاحظة. هذا ويمكن إحداث مثل هذا التغير (التطفر) عمداً ، مثل نقل عوامل المقاومة (مضادات الحيوية) R-factors أو إنتاج سلالات منتجة للتوكسين toxigenic من سلالات غير منتجة من ميكروب الدفتريا Corynebacterium diphtheriae وهذه الظاهرة الأخيرة تسمى Transduction.

٣- الإفتقار إلى تكنيك وطرق تحاليل ثابتة وموحدة ودقيقة ، وبيئات زرع قياسية تصلح فى جميع الأماكن من العالم ، وصعوبة تقدير التراكيب الجزيئية للقواعد النيتروجينية فى كثير من البكتيريا.

التصنيف الرقمى : Numerical Taxonomy

قد يسمى أيضاً التصنيف الحسابى ويعتمد على أسس معروفة منذ سنوات عديدة ، لكنه لم يستخدم فى مجال التصنيف الميكروبى إلا حديثا. ففكرة التقسيم الرقمى أول ما وصفت كانت بواسطة مايكل أدانسون Michel Adanson سنة ١٧٥٧ وأول إستخدامها فى مجال تصنيف البكتيريا كان على يد Sneath سنة ١٩٥٦. يتطلب التصنيف الرقمى توفر كم كبير من المعلومات بقدر ما يمكن للباحث التوصل له حول الخصائص غير المرتبطة ببعضها عن الميكروب موضع الدراسة. ويكون لكل خاصية نفس القدر من الأهمية Equal weight عند إجراء التقييم وتكوين المجموعات أو الوحدات التقسيمية taxa (Sing. Taxon).

ويعتمد التشابه الإجمالى overall similarity على نسبة الخصائص التى تكون متوافرة بالميكروب بصفة عامة. وبصيغة عملية يقوم إختصاصى الميكروبيولوجيا Microbiologists بتجميع النتائج عن كل مزرعة ميكروبية تحت الدراسة. وبإستخدام الحاسب الإلكترونى تجرى مقارنة نتائج كل

مزرعة فيما يتعلق بالخواص المظهرية phenotypic characters بنتائج الأخرى حيث تدون النتائج على هيئة "+" فى حالة وجود الصفة و "-" فى حالة غيابها. وهنا تتجلى أهمية الحاسبات الآلية ذات السرعات العالية وإلا فإن الآلاف العديدة من المقارنات المطلوب إجراؤها سوف تحتاج لوقت يطول كثيراً جداً. وتبدو النتيجة النهائية فى أن إختصاصى الميكروبيولوجيا يمثله الحساب وكذا التعبير الرقمى لدرجة تشابه كل مزرعة بأى مزرعة أخرى مهما كانت. ويقوم إنشاء المجموعات taxa على أساس درجات الشبه المتفق عليها. وتجدر الإشارة هنا إلى أن طبيعة المجموعة الموصفة identified group تكون وحيدة الأصل (العرق) Monothetic فى حالة المدرسة التقليدية المظهرية phylogenetic school ، لكنها تكون متعددة الأصول (الأعراق) polythetic فى حالة الإتجاه التقسيمى الرقمى. ففى حالة التقسيم المظهرى يفترض وجود سلسلة أسلاف عامة a common ancestry لنفس الكائنات بذات المجموعة (الوحدة التقسيمية). على العكس من ذلك ، لا يتفق التقسيم الرقمى مع تلك الفرضية العرقية Phyletic assumption.

وهناك ميزتين أساسيتين لهذا الطراز من التصنيف الرقمى :

١- يمكن تحقيق الموضوعيه به أى منع النزعات (أو التحاملات) biases التى يمكن أن تعترى فكر إختصاصى علم التقسيم taxonomist خلال التطبيق ، ومن ثم تكون النتائج غير معرضه لإختلاف الآراء.

٢- الميزة العظيمة الأخرى للتصنيف الرقمى تتجلى فى أن نتائجه تكون قابلة للإستخراج ثانية Reproducible أو قابلة للإعادة أو التكرار Repeatable بمعنى أن أى إختصاصى آخر فى التقسيم taxonomist سوف يصل لذات النتيجة فى حالة إتباعه نفس التكنيك procedure. ثمة إنتخاب الصفات المميزة وتقديرها فى المعمل وجدولتها ، فإنه يجرى

تشفيرها للتحليل الرقمي computer or numerical analysis. وتستخدم الحاسبات الإلكترونية غالباً في مثل تلك الأعمال حيث تحسب النسب المئوية للتشابهات percentage similarities (%S) للميكروب ويعبر عنها كمعاملات تضاهي matching coefficient (% S values) لكل ميكروب على النحو التالي :

$$\% S = \frac{Nsp}{Nsp + Nd} \times 100 \quad \text{or}$$

$$= \frac{Nsp + Nsn}{Nsp + Nsn + Nd} \times 100$$

وعلى أية حال فاننا سوف نسلك في دراسة هذا المقرر المدخل الكلاسيكي (المظهري) لتصنيف البكتيريا وحيث يلخص التصنيف عادة بالوحدات التقسيمية الآتية :

Kingdom .... مملكة

Division or phylum .... فرقة

Class .... قسم

Order .... رتبة

Family .... عائلة

Tribe .... فصيلة

Genus .... جنس

Species .... نوع

Subspecies or variety or individual .... سلالة

الخصائص والمعايير المستخدمة في تصنيف البكتيريا

ويمكن حصر الخصائص والمعايير التى تستخدم فى تصنيف البكتيريا إلى الآتى :

أولاً : الخصائص الميكروسكوبية Microscopic characteristics

وتمثل هذه الخصائص أهمية كبيرة فى تصنيف البكتيريا حيث توضح مورفولوجيا البكتيريا من حيث شكل الخلية – حجم الخلية – نظام تجمع الخلايا – نظام توزيع الأسواط – وجود الكبسولة وكذلك وجود الجراثيم الداخلية. كذلك توضح هذه الخصائص نتيجة الصبغ ببعض الصبغات المختلفة مثل صبغة جرام والصبغة الصامدة للأحماض والتى تساعد بدور كبير فى عملية التصنيف.

ثانياً : خصائص النمو Growth characteristics

وهذه الخصائص لها دوراً فعالاً فى عملية التصنيف مثل شكل النمو في المزارع السائلة إما تكون فى صورة راسب ، أو فى صورة نمو سطحى أو فى شكل عكارة فى الوسط الغذائى. كذلك تتعلق بعملية إنتاج الصبغات من عدمه سواء كانت صبغات مفرزة خارج الخلية البكتيرية أو صبغات داخلية.

كذلك تلعب مورفولوجيا المستعمرات البكتيرية دوراً هاماً فى هذا الشأن حيث تسمى المواد التى تنمى عليها البكتريا فى المعمل مستنبتات أو بيئات غذائية وهى تحتوى مواد غذائية مختلفة. بعض هذه المستنبتات يحتوى على أملاح غير عضوية وأحياناً يضاف إليه مادة عضوية أو أكثر. والبعض الآخر يحضر من مركبات عضوية معقدة التركيب كمستخلصات النباتات أو مهضوم الأنسجة وهناك ظروف خاصة تؤثر على نمو البكتريا على هذه المستنبتات مثل درجة الحرارة فبعض البكتريا لا يستطيع النمو على درجات حرارة أقل من ٣٩ °م ، ولكنه ينمو على درجات حرارة أعلى من ذلك وقد

تصل إلى ٧٠ °م. والبعض الآخر لا يمكنه النمو على ٣٥ °م فما فوق ذلـك ويمكنها النمو على درجة صفر م ويسـمى ذلـك بالإحتياجـات الحراريـة للكائنات. أما بقية الخواص المزرعية فتتمثل فى الإحتياجات الهوائية فبعض الكائنات يحتاج إلى الأوكسجين والبعض الآخر لا يحتاج بحيـث يسـتطيع المعيشة بدون الأوكسجين والبعض يمكنه أن يعيش فـى وجـود أو غيـاب الأوكسجين أما بالنسبة لنوعية الغذاء المقدم فى المسـتنبت فيعـرف ذلـك بالإحتياجات الغذائية للكائن. فبعض الكائنات يكون ذاتى التغذية الكربونية أى يستطيع الحصول على الكربون اللازم له من مصادر غير عضوية مثل ك أ٢ والبعض الأخر ذاتى التغذية النتروجينية فيستطيع الحصول على النتـروجين اللازم له من النتروجين الجوى.

ثالثاً : الخصائص البيوكيماوية Biochemical characteristics

وهذه الخصائص أيضاً تقوم بدوراً هاماً فى عملية التصنيف حيـث تتعلق بالتركيب الكيماوى لمكونات الجدار البكتيرى ، بيوكيمياء الصبغات ، الأجسام المخزنة بالخلية البكتيرية ، جزيئات الحمض النووى RNA وكذلك دراسة أنتيجين الخلية.

رابعاً : الخصائص الفسيولوجية Physiological characteristics

وهذه الخصائص تتعلق بدراسة الإحتياج الحرارى للميكروب وتحديد درجة الحرارة المثلى للنمو وكذلك إستجابة الميكروب للأوكسجين وتحديـد نوعية الميكروب بالنسبة للأوكسجين. هذا علاوة على درجة تحمل الميكروب لدرجات الحموضة المختلفة وتحديد نوعية الميكروب بالنسـبة للحموضـة. كذلك تهتم هذه الخصائص بخاصية تحمل الإسموزية وتحديد نوع الميكروب هذا بجانب إحتياج الميكروب لنسبة الملوحة ومدى تحمله لها ناهيـك عـن خاصة الحساسية لمضادات الحيوية.

خامساً : الخصائص الغذائية Nutritional characteristics

وهنا يجب دراسة مصادر الطاقة – مصادر الكربون – مصادر النتروجين وكذلك الناتج من عملية التخمير الميكروبى. وكذلك يتم دراسة تحديد طبيعة الأيض الحيوى الميكروبى وتحديد ما إذا كان الميكروب أوتوتروفى ، هتيروتروفى مخمر أو من الميكروبات الهوائية مع قياس درجة وكفاءة عملية التنفس.

سادساً : الخصائص الوراثية Genetic characteristics

وبالنسبة للمعايير والخصائص المستخدمة فى تصنيف البكتيريا ، تجدر الإشارة إلى أن من أحدثها وأكثرها إفادة فى تحديد الإختلافات بين الأنواع وكذا بين الأجناس البكتيرية هى تلك الخصائص الوراثية. إذ من المعروف أن حمض RNA يتكون من سلسلة حلزونية مفردة بينما يكون الـDNA عبارة عن حلزون مزدوج ترتبط فيه القواعد النيتروجينية بروابط أيدروجينية ، وكل سلسلة منها توجد فى وضع عكسى بالنسبة للأخرى Antiparallel arrangement وأنواع الـ DNA الموجود فى الطبيعة من كائنات مختلفه تقسم إلى طرازين :

١- طراز يسمى GC type وفيه يكون الجوانين والسيتوزين سائدين.

٢- طراز يسمى AT type وفيه يكون الأدنين والثيمين سائدين.

وبالنسبة للنوع الواحد من الكائنات الحية عموماً ، فإن تركيب الـDNA فيه يكون ثابتاً مهما كان نوع النسيج أو العمر ، بمعنى أن يظل تركيب القواعد النيتروجينية ثابتاً فى هذا النوع – وهذه خاصية فى غاية الأهمية. ومن الملاحظ أن هناك إختلافات كبيرة فى النسبة A + T : G + C فى الكائنات المختلفة ، إلا أن هذه الإختلافات ليست عشوائية حيث نجد أن تلك النسبة فى الكائنات المرتبطة تقسيمياً تكون متشابهة ، ويتضح التشابه بين أفراد أو أنواع الجنس البكتيرى عن سواه.

وكما سبق ، فإن الـــDNA يكون فى الطبيعة علـــى صــورة الحلــزون المزدوج ، كما يتضح من الزيادة فى الكثافة الضوئية عند التســخين ، وهــو مــا يعرف بظاهرة الـــ Hyperchronic shift حيث يحدث زيـــادة فـــى إمتصـــاص الضوء عند تحول DNA المزدوج double stranded إلى DNA وحيد الجديلــة single stranded وتعتبر الصورة الأخيرة متغيــرة فـــى خواصـــها الطبيعيــة denatured فإذا أخذت عينة من الـــDNA مـــن البكتيريوفـــاج T_2 مـــثلاً، فإنـــه بتعريض هذه العينة للحرارة مع قياس الإمتصاص الضوئى عند طـــول مـــوجى قدره 260nm ($2600\ A^o$) وهو أقصى طول موجى تمـــتص عنـــده الأحمـــاض النووية الضوء فإن إمتصاص الضوء يظل ثابتاً حتى درجة ٧٥ ^{o}م ثم يزيد بمقدار ٣٥ % فى مدى أربعة درجات ويصل بعد ذلك إلى إمتصاص الضـــوء المميـــز لجزىء الـــDNA وحيد الجديلة ويستدل على ذلك أيضاً بالتغير فـــى اللزوجـــة. ويطلق على درجات الحرارة التى يكتمل عندها نصف عملية التحول من الصورة المزدوجة السلاسل إلى الصورة وحيدة السلســـلة ، درجـــة حـــرارة الإنصـــهار melting temperature (Tm). ودرجة حرارة الإنصهار ثابتة لكـــل نـــوع مـــن أنواع الـــDNA ، وتتوقف قيمتها على المحتوى من G + C أو نسبتهما (%).

وعند تبريد محلول DNA المسخن ، بسرعة فإن إمتصاص الضوء لا يعود للقراءة الأولى ، وإن كان ينقص بعض الشـــىء – وبفحـــص المحلـــول المبرد سريعاً بالميكروسكوب الإلكترونى أو بقياس اللزوجة النســـبية يمكـــن الإستدلال على أن جزىء DNA ملتف عشوائياً Randomly coiled. بينمـــا إذا بُرد المحلول ببطء (ربما خلال ثلاثة ساعات) فإن الإمتصـــاص الضـــوئى ينخفض للقراءة الأولى (الأصلية) مما يعنى أن الـــDNA قد إســـتعاد تركيبـــه الحلزونى المزدوج المتميز بإرتباطه الدقيق بين القواعد. ويطلق على عمليـــة

التسخين والتبريد البطيء إصطلاح الإلتحام annealing. ولقد أمكن إثبات أن الـDNA المعامل بهذه الطريقة يحتفظ بخواصه الحيوية.

ولقد إستخدمت خاصية الإلتحام أساسا لإختبار مدى توافق أو تكامل complementarity سلسلتين من الـDNA ، ويعرف هذا الإختبار بإسم إختبار تهجين الـDNA بـ DNA Hybridization. وفى هذا الإختبار يخلط عينتين من الـDNA من مصادر مختلفة ، أحدهما معلم بالنيتروجين N^{15} ، وبالأيدروجين الثقيل Dentrium (H^2) وتجرى عملية تسخين لفصل سلسلتى DNA فى كل عينة ثم يبرد المحلول ببطء ليسمح بإرتباط السلاسل حيثما يحدث التوافق. ويستدل على مدى التوافق أولا بإزالة اى أجزاء غير مرتبطة ، بإنزيم يقوم بتحليل السلاسل المفردة ولا يحلل السلاسل المزدوجة ثم يتبع هذه المعاملة إجراء طرد مركزى فى وجود تدرج الكثافة Density gradient centrifugation. ويمكن بهذه الطريقة فصل الـDNA الثقيل المحتوى على N^{15} ، H^2 من الـDNA الخفيف المحتوى على N^{15} ، H^1 وكذلك من الـDNA المتوسط فى الكثافة والذى ينتج عن إلتحام سلسلة من DNA الثقيل مع سلسلة من DNA الخفيف. وفى هذه الطريقة توضع العينة المراد فصل محتوياتها على سطح محلول مركز من ملح ثقيل من كلوريد السيزيوم cesium chloride ، وعند تعريض الأنبوبة للطرد المركزى فإن محلول الملح يصبح أكثر كثافة عند طرف أنبوبة الطرد المركزى وتتحرك جزيئات الـDNA إلى حيث تتساوى كثافتها مع كثافة المحلول. وبذلك يكون DNA الثقيل عند طرف الأنبوبة يتلوه DNA المتوسط ثم الخفيف ويتحدد مكان وكمية كل من الثلاثة أنواع بإستخدام أجهزة ضوئية تقيس الإمتصاص الضوئى عند 260 nm وتكون كمية DNA المتوسط الكثافة أى المحتوى على N^{15} ، N^{14} مقياسا لمدى توافق عينتى الـDNA .

ثانياً : الأهمية الإقتصادية للبكتيريا Economic importance of bacteria

لكى تكتمل الفائدة المرجوة من دراسة البكتيريا لابد من الضروري دراسة الأهمية الإقتصادية سواء كانت موجبة أو سالبة لبعض المجموعات البكتيرية الهامة فى حياه الإنسان سواء من الناحية الزراعية أو الصحية .

وتجدر الإشارة هنا بأنه تبعاً للطبعة التاسعة من كتاب برجى سنة ١٩٩٤ الخاص بتمييز البكتريا Bergey's Manual of Determinative Bacteriology فقد خصصت مملكة البروكاريوتات لتضم جميع الكائنات بدائية النواة من بكتريا وطحالب خضراء مزرقة (سيانوبكتريا). ولقد إستخدمت مجموعة من الخصائص (سابقة الذكر) بجانب تركيب الجدار الخلوى فى تصنيف بقية البروكاريوتات وهى البكتريا إلى ٣٥ مجموعة كل منها يسمى جزء (part) منها ٣٠ مجموعة تضم البكتريا الحقيقية Eubacteria و ٥ مجموعات تضم الأرشيوبكتيريا. ويمكن ذكر هذا التقسيم كالآتى :

Kingdom : Procaryotae

Division 1 : Gracilicutes : Gram negative bacteria

وهذه بكتريا سالبة لصبغة جرام و جدرها رقيقة

Class 1. Scotobacteria

يضم البكتريا السالبة لجرام الغير ممثلة للضوء

Class 2. Anoxyphotobacteria

يضم البكتريا السالبة لجرام الممثلة للضوء التى لا تنتج الأوكسجين

Class 3. Oxyphotobacteria

يضم البكتريا السالبة لجرام الممثلة للضوء والتى تنتج الأوكسجين (السيانوبكتيريا)

Division 11. : Firmicutes : Gram positive bacteria

وهى بكتريا موجبة لجرام جدرها سميكة وقوية

Class 1. Firmibacteria

يضم العصويات أو الكرويات الموجبة لجرام

Class 2. Thallobacteria

يضم الخلايا المتفرعة الموجبة لجرام (الأكتينوميسيتات)

Division 111 : Tenericutes

Class 1. Mollicutes

يضم البكتريا التى تفتقر للجدار الخلوى (الميكوبلازمات)

Division IV : Mendosicutes

Class 1. Archaeobacteria

يضم البكتريا التى يحتوى جدارها وأغشيتها الخلوية على مركبات غير قياسية لها أنماط وطرز غذائية مختلفة ، وفيما يلى مختصر عن هذه المجموعات البكتيرية ، وأهميتها الإقتصادية الزراعية أو الصحية .

I. Eubacteria :

1. The Spirochetes

الإسبيروكيتات هى البكتيريات الشبيهة بالبروتوزوا ، خلاياها رفيعة slender مرنة الجدار flexuous ملتفة حلزونيا helically coiled يبلغ طول الخلية الفردية ٣-٥٠٠ ميكرون ، وبها واحد أو أكثر من الإنثناءات الكاملة الليات complete turns. تتكاثر الإسبيروكيتات بالإنقسام العرضى البسيط. ومن الدراسات التى أجريت بالميكروسكوب الإلكترونى ، إتضح أن الخلايا تبدو وكأنها مكونه من أسطوانة بروتوبلازمية protoplasmic cylinder مجدولة أو مضفرة intertwined بواحد أو أكثر من لييفات محورية axial fibrils (axial filaments) وكلا الإثنان أى الأسطوانة البروتوبلازمية والخيوط المحورية يكونان محاطان بالغشاء الخارجى (outer envelope) outer membrane.

والإسبيروكيتات متحركة إذ يتواجد فيها ثلاثة طرز للحركة تشمل الدوران السريع حول لمحور الطولى للحلزون ، إنثناء flexion (flection) الخلايا. والحركة البريمية أى على إمتداد مسار حلزونى (corkscrew) أو محوى helical path serpentine. الخلايا لا تكون جراثيم داخلية ، الأنواع الكبيرة منها سالبة لجرام ، قد تكون هوائية ، لا هوائية إختياراً ، أو لا هوائية ، كيموهتروتروفيه ، تعيش حرة ، معايشات commensals أو طفيليات parasites.

الأنواع الصغيرة الحجم منها لها قدرة على كسر الضوء أقل كثيراً من غالبية البكتيريا القياسية ، الأمر الذى يتطلب لرؤيتها إستعمال الميكروسكوب ذو الحقل المظلم Dark-field microscope. وبعض هذه الأنواع يصعب صبغة بالصبغات العادية الأنيلينيه ، إلا أن صبغة جيمسا Giemsa stain تصلح بنجاح.

والبكتيريا التى لها صفات هذا الجزء part وضعت كلها فى رتبة Spirochaetales والتى يتبعها عائلة واحدة هى Family Spirochaetaceae تتلخص خصائصها key characteristics فيما يلى :

1- Size, shape of ends and degree of coiling of cells
2- Number of turns
3- Relationship to oxygen
4- Habitat
5- Presence of inclusions and bundles of axial filaments as see in phase contrast microscopy
6- Catalase
7- Oxidase
8- Pathogenicity

وإستنادا إلى الخصائص السابقة تصنف العائلة إلى خمسة أجناس على النحو التالى :

١- الخلية الفردية تبلغ ٥ – ٥٠٠ ميكرون طولا ، ٠,٢- ٠,٧٥ ميكـرون عرضا ، لا هوائية إختيارا. تعيش حرة فى المياه العذبـة المحتويـة علـى يدهكب وفى البيئات البحرية ، فى مياه المجارى والمياه الملوثة مثل جـنس Genus 1 : *Spirochaeta*.

٢- الخلية تبلغ ٣٠-١٥٠ ميكرون طولا ، ٠,٥ – ٣,٠ ميكرون عرضـا ، وبها ٣ – ١٠ ليات كاملة complete turns. يوجد فى العينات الحية منهـا أجساما محتواه inclusion bodies بيضية الشكل وحزم كبيرة مـن لييفـات محورية axial fibrils. وهذه التراكيب ترى عن طريـق تكنيـك الفحـص الميكروسكوبى متباين الأطوار phase contrast microscopy. أفراد الجنس تعتبر معايشات commensals عادة فى الرخويات mollusks مثـل جـنس Genus 2 : *Cristispira*

٣- الخلية تبلغ ٥ – ١٥ ميكرون طولا ، ٠,٠٩ – ٠,٥ ميكـرون عرضـا سالبة لإختبار الكتاليز والأوكسيديز – لا هوائيات ، معايشات commensals أو طفيلية parasitic. البعض منهـا ممرضـات pathogens مثـل جـنس Genus 3 : *Treponema*.

٤- الخلية تبلغ ٣ -١٥ ميكرون طولا ، ٠,٢ – ٠,٥ ميكرون عرضـا ، لا هوائيات ، طفيليات ، البعض ممرض ، تنتقل بوساطة القراد ticks والقمـل lice مثل جنس Genus 4 : *Borrelia*.

٥- الخلايا تبلغ ٦ -٢٠ ميكرون طولا ، ٠,١ ميكرون عرضـا ، ملفوفـة بإحكام وقد يكون لها نهايات منحنية أو خطافية الشكل ، هوائيـات ، تعـيش

حـــرة أو متطفلـــة ، الـــبعض منهـــا يكـــون ممـــرض مثـــل جـــنس .Genus 5 : *Leptospira*

* جنس *Cristispira* : أفراده معايشات ، واسعة الإنتشار بين الرخويـــات ذات المصراع الواحد univalve وذات المصراعين bivalve مـــن الأنـــواع البحرية وأيضاً متواجدة في المياه العذبة. وعادة تتواجد هذه البكتيريات فـــى قلم السمه (حامل السمه) البللورى crystalline style (وهو تركيـــب شـــبيه بالعصا يتكون من إفرازات مخاطية بالحيوان الرخوى) أو توجد فى ســـائل القناة الهضمية.

* جنس *Treponema* : أفراد الجنس كيموأورجانوتروفات ، الأيض تخمرى إذ تستخدم الأحماض الأمينية أو الكربوهيدرات أو كليهما معاً. لا هوائيـــات حتماً ، سالبات لإختبار الكتاليز والأوكسيديز ، سالبة لليوريز urease سالبة للـــV.P ، لا تختزل النترات ، لا تثبط بخلات اليود Iodoacetate. تتواجـــد فى التجويف الفمى ، المسلك المعوى intestinal tract والمناطق التناســـلية للإنسان والحيوانات ، بعض الأنواع ممرضـــات ، النـــوع المثـــالى type species لهذا الجنس هو *T. pallidum* وهـــو مســـبب مـــرض الزهـــرى syphilis فى الإنسان سواء كان المـــرض تناســـليا venereal أى مكتســـبا acquired نتيجة لعدوى أو إصابة كأن يكون بفعل علاقات جنسية – أو كان المرض خلقياً مع الولادة congenital. ويتواجد هذا الميكروب فـــى القـــرح الزهرية syphilitic lesions.

ويطلق عموماً على الأمراض التى يسببها أفراد هـــذا الجـــنس " أمـــراض التريبونيماتوزس treponematoses " ، ومنها الزهرى syphilis فى الإنسان ويسببه *T. pallidum* ، المصع yaws (framboesia) فى الإنسان ويســـببه *T. Pertenue* وبنتـــا pinta أو كـــاراتى carate فـــى الإنســـان ويســـببه

T. carateum ، والحالة المسماه Vincent's infection وتنشأ عـن تواجـد *T. vincentii* فى التجويف الفمى للإنسان. ويتسبب ذلك فى إنبعاث روائـح كريهة من الفم وهى الحالة المسماه أيضاً " فـم الخنـدق trench mouth " وكثيراً ما تحدث هذه الحالة عند الأشخاص الذين يعانون من متاعب باللثـة وحين يعانى المريض مـن نقـص فيتـامين B أو C وكـذلك الأشـخاص المصابون أصلاً بالهربس التناسلى Herpes simplex (mononucleosis).

جنس Borrelia : أفراده سالبات لجرام ، تصطبغ جيداً بالصبغات الأنيلينيـة وبصفة خاصة فى حالة إستعمال الفينول كمثبـت للصـبغة ، لا هوائيـات إجباراً. والبورليات borrelias بصفة عامة طفيلية أو تعيش على الأغشـية المخاطية. البعض منها ممرض للإنسان ، الحيوانـات ، الطيـور. وتنتقـل الأنواع التى تصيب الإنسان بالحمى الراجعه relapsing (recurrent) fever إليه عن طريق قمل الإنسان (Pediculus humanus subsp. humanus) أو أنواعاً من القراض ticks تتبع لجنس Ornithodoros والذى يعتبر غالباً ناقل للحمى الراجعه الأفريقية والتى تسمى لذلك " حمـى القـراد tick fever " ، والجنس السابق للقراد يتبع عائلة Argasidae والتى تضم أنواع القراد اللين soft ticks.

وجنس *Borrelia* يضم حوالى ١٩ نوعاً معظمهـا يسـبب الحمـى الراجعة للإنسان ، منها النوع *B. recurrentis* مسـبب الحمـى الراجعـه الوبائية epidemic relapsing fever فى الإنسـان ، وينتقـل الميكـروب للإنسان عن طريق القمل ، والنوع *B. hispanica* مسبب الحمـى الراجعـه المتوطنه endemic human relapsing fever فى شمال أفريقيا والأقطـار المحيطة بالبحر الأبيض المتوسط ، والنـوع B. hermsii مسـبب الحمـى الراجعه المتوطنه فى الإنسان فى غرب الولايات المتحدة وكندا.

بعض أفراد الجنس مثل النوع *B. refringens* يوجـد كمعـايش علـى الأعضاء التناسلية الخارجية للمرأة ، كما أن كثيراً مـن البوريليـات ذو أهميـة بيطرية كبيرة نظراً لإصابتها للماشية والأغنـام والخيـول والطيـور بـأمراض خطيرة، وفى معظم هذه الأمراض ينتقل الكائن المسبب عن طريق القراد ticks.

جنس *Leptospira* : أفراده هوائيات حتماً ، كيموأورجانوتروفات ، الأيض تنفسي ، مستقبلات الإلكترون النهائية هى سيتوكرومات C_1, C, a. المـواد منتجة الطاقة لا بد وأن تشتمل على أحماض دهنية كمصدر للكربون. بعض أفراد الجنس طفيليات أو ممرضات فى الفقاريات ، وبعضها يعيش حراً ولقد إكتشف هذا الجنس بواسطة Noguchi فى العشرينات من القـرن الماضـي ودرس خصائص النوع *Leptospira icterohemorrhagiae* (وهو يسـمى الآن *L. interrogans*) عام ١٩١٨ ، وهو الذى يسـبب مـرض اليرقـان Jaundice (أو مرض فيل Weil's disease) فى الإنسان والحيوان.

ويطلق على مجموعة الأمراض التى يسببها أفراد هذا الجنس إسم " لبتوسبيروسيس *Leptospiroses* (sing. *Leptospirosis*) ". ولقـد لـوحظ مرض لبتوسبيروسيس فى حيوانات مزرعة بالولايات المتحدة الأمريكية فى الأربعينات من القرن الماضي ثم سجل وجوده بعد ذلك فى أماكن كثيرة من العالم حيث يصيب غالباً الأبقار والخنازير وتسرى الإصابة إلى الإنسان من بول تلك الحيوانات. كما عرف بعد ذلك مرضاً من طراز مشابه فى الكلاب يتسبب عن ميكروب *Leptospira canicola* والمرض قد يسمى " تيفـوس الكلاب canine typhus ". أما اللبتوسبيروسيس فـى الماشـية والخنـازير والخيول فيتسبب عن ميكروب *L.pomona* وقد يتسبب اللبتوسبيروسيس فى الإجهاض abortion فى الماشية أو الخنازير وفقدان الحيوانـات الصـغيرة والبالغة بالوفاة ، وفقدان إنتاج اللحم بسبب إعاقة النمو ، وفقدان اللبن نتيجـة

لنقص الإدرار ومن مصادر عدوى الإنسان بمرض لبتوسبيروسيس – الأغذية الملوثة بفضلات القوارض وبول الكلاب أو الحيوانات المصابة.

2. Aerobic-microaerophilic motile helical vibroid

يضم هذا الجزء عصويات منحنية ، حلزونية ليس بها إلتواءات ، كما أن ثنياتها أو إنحناءاتها قليلة ، وهى ذات جدر خلوية صلبة. يترلوح قطر الخلية ما بين ٠,٢ إلى ١,٧ ميكرون ، ويصل طول الحلزون ما بين ٠,٥ إلى ٦٠ ميكرون. تتحرك سابحة في إتجاهات مستقيمة بواسطة حركة بريمية مميزة مثل حركة ثاقبة الفلين. وقد تمتلك فلاجلا واحدة قطبية أو حزمة من الفلاجلات القطبية. قد توجد الفلاجلات على قطب واحد أو على القطبين. بعض الأنواع هوائية حتماً والبعض الأخر شحيح التهوية إجباراً حيث يحتاج الأوكسجين كمستقبل نهائي للإلكترون. البعض أيضاً لاهوائى لكن في مقدوره أن ينمو أيضاً تحت ظروف شحيحة التهوية.

الأفراد كيموأورجانوتروفيه ، ليس عندها المقدرة على تخمير الكربوهيدرات ، ولو أن أنواعاً قليلة يمكنها أكسدة بعض المواد. موجبات لإختبار الأكسيديز ، سالبات لإختبار الأندول. البعض ينتج صبغة خضراء مصفرة ذائبة في الماء فلوريسنتيه. البعض ينمو في بيئة بسيطة من أملاح معدنية تحتوى على مصدر كربوني وحيد وكبريتات أمونيوم ، على حين يتطلب البعض الآخر بيئة معقدة تعتمد على وجود الببتون. تعيش بعض الأنواع حرة في المياه العذبة وفى الأوساط البحرية. البعض الآخر يعيش مترمماً أو متطفلاً. بعض الأنواع ممرضات.

صنفت البكتيريات في هذا الجزء part تحت مجموعتين :

الأولى : وهى عائلة Spirillaceae وتضم جنسين فقط هما :

١- Genus *Spirillum*

٢- Genus *Campylobacter*

الثانية : وهـــي أجناســا غيــر محــددة النســب Genera of Uncertain Affiliation

وتضم أربعة أجناس هـــي - *Bdellovibrio – Pelosigna – Microcyclus* *Brachyarchus*

أما جنس *Spirillum* فيضم مجموعة كبيرة من الأنــواع غالبيتهــا رميات saprophytes ومنها ما يعيش في التربة ويقوم بتثبيت النيتــروجين الجوى ، والقلة من أفراد الجنس ممرضات مثل *Spirillum minor* والــذى يسبب للإنسان طرازاً من حمى عضه الفأر rat bite fever. ممكن أن ينتقل الميكروب إلى الفئران mice ، الجرذان rats ، خنازير غينيا guinea pigs والقرود monkeys. ويبدو أنه طفيل طبيعى فــى الجــرذان والتــى تعمــل كحوامل (ناقلات) سليمة له. وبسبب إنتشاره الواسع ، فإن هذا الميكروب قد وصف بواسطة إختصاصيين فى مجالات مختلفة تحت أسماء مختلفة. يتواجد فى دم الجرذان rats والفئران mice.

أما جنس *Campylobacter* فيضم مجموعة قليلة من الأنواع (غالبا ثلاثة) هى :

١- *Campylobacter fetus* ويحتوى على ثلاثة تحت نوع هى :

C. fetus subsp. fetus

C. fetus subsp. intestinalis

C. fetus subsp. jejuni

٢- *Campylobacter sputorum* ويحتوى على تحت نوع

٣- *Campylobacter faecalis* ويحتوى على ثلاثة تحت نوع

ويعتبر الميكروب *C. fetus subsp. fetus* أحــد أســباب الإجهــاض abortion وعدم الخصوبة infertility فى المواشى ، وينتقل جنسياً ويوجد فى المخاط المهبلى للأبقار المصابة ، فى السائل المنوى والقلفة prepuce للعجول وفى مشيمة وأنسجة الأجنة البقرية المجهضة. ممــرض للماشــية ، خنــازير غينيا، حيوانات الهمستر hamsters وبيض الدجاج ذو الأجنة. غير ممــرض للأرانب ، الفئران ، الجرذان عند حقنها بداخل البريتون. لا يتكاثر فى الجهاز المعوى للإنسان والحيوانات أمــا الميكــروب *C. fetus subsp. intestinalis* فيسبب الإجهاض فى الأغنام ولحد ما فى المواشى ، كما يسبب إصابات فــى الإنسان ولو أنها قليلة جداً إلا أنه وجد فى حالات تسمم دموى septicemia ، إلتهاب السحايا meningitis ، enteritis ، septic arthritis، jaundice فــي الإنسان. عزل هذا الميكروب من المحتويات المشيمية والمعدية للأجنــة مــن الأغنام والماشية المجهضة ، ومن الدم ، المحتويات المعوية والصفراء للنعاج ewes ، الماشية والإنسان. ينمو هذا الميكروب في الجهــاز المعــوي وفــى الحويصلة الصفراء للإنسان والحيوانات أما *C. fetus subsp. jejuni* فقد عزل من مشيمات ومحتويات المعدة لأجنة الأغنام المجهضة. أيضا يوجد بصــورة طبيعية فى المسلك المعوي للخنازير ، الماشية ، الأغنام ، الماعز ، الكتاكيت ، الديوك الرومى والطيور البرية. يسبب هذا الميكروب المرض للإنسان ، ينتقل عن طريق الفم ، يمكنه النمو في الجهاز المعوي للإنسان والحيوانات.

وتجدر الإشارة إلى بأن كلا السلالتين اللتين تصيبا الإنسان تقاومــا البنسيلين ، بوليمكسين B ، والباسترسين ، لكنهما حساســتين للكلنداميســين clindamycin ، tetracycline ، streptomycin ، gentamycin و الــــــــــ erythromycin.

يحتوى جنس *Bdellovibrio* على ميكروبات هامة زراعيـا مثـل ميكروب *B. bacteriovorus* وهو متحرك عن طريق فلاجـلات طرفيـة قطبية وحيدة ، يعيش فى فترة من حياته إجباريـا كطفيـل داخـل الخلايـا البكتيرية للأنواع الأخرى ، ويعتبر ذلك ضروريا لكى ينمو ويتكاثر. ويتواجد الميكروب بكثرة فى المياه والأراضى الزراعية والسماد حيث تتواجد أعـداد غزيرة من البكتيريات السالبة لجرام. ولقد عزل كثيراً من الحمـأة النشـطة activated sludge حيث توجد أعداداً كبيرة من بكتيريات القولون. وظاهرة تطفله داخل الخلايا البكتيرية تشبه لحد ما ظاهرة التحلـل الفـاجى للخلايـا البكتيرية مع بعض الإختلافات أما النوع *Bdellovibrio stolpii* فله مجـال عوائلى يماثـل المجـال العـوائلى للنـوع *Bdellovibrio bacteriovorus* ويختلف الإثنان فى أن الأول تطفلى إختياريا facultatively parasitic على عكس الأخير فكثير من سلالاته تطفليه إجباريا obligately parasitic. وأى خلية من النوع الإختيارى يمكنها تكمله دورة حياتها إما تطفلياً بداخل خليـة بكتيرية عائلة ، أو ترمميا على وسط غذائى معقد. ويتميز النوع الميكروبى *Bdellovibrio starrii* بأن مجاله العوائلى يقتصـر علـى السـيدومونادات pseudomonads. وبصفة عامة فإن أفراد هذا الجنس والتـى لهـا صـفة (خاصية) الإفتراس ، لها أهمية زراعية حيث تؤثر على الميزان الميكروبى فى الأرض والسماد البلدى.

3. Nonmotile (or rarely motile) Gram-negative curved bacteria

هى بكتيريا لها شكل منحنى curved بدرجات متفاوتة حيث يكـون منحنى أو أو واوى أو حلقى أو حلزونى . وتنمو فقط فى وجود الأكسجين ، وهى غير ممرضة توجد عادة فى التربة الزراعةي وفـى الميـاه العذبـة

والمالحة ، ومن أمثلة بكتيريا هذه المجموعة جنس Spirosoma وهو من ميكروبات التربة ، وجنس Microcyclus الذى تميل خلاياه إلى التواجد فى حلقات عقب الإنقسام وقبل الإنفصال كما يتميز بتكوين فقاعات غازية دائمة داخل خلاياه تساعده على الطفو فى الأوساط المائية التى تعيش فيها .

4. Gram negative aerobic microaerophilic rods and cocci

يدخل تحت هذا القسم خمسة عائلات هى :

Family 1 : Pseudomonadaceae

Family 2 : Azotobacteraceae

Family 3 : Rhizobiaceae

Family 4 : Methylomonadaceae

Family 5 : Halobacteriaceae

وكذلك عدد ستة أجناس غير محددة النسب genera of uncertain affiliation وهى Alcaligenes, Acetobacter, Brucella, Bordetella, Francisella, Thermus

أولا : عائلة Pseudomonadaceae : أفرادها عصويات مستقيمة أو منحنية، سالبات لجرام ، متحركة بواسطه فلاجلا طرفية من القطب ، كيمواورجانوتروفية تحصل على طاقتها بالتنفس وليس أبداً بالتخمر ، هوائيات حتماً ، موجبة لإختبار الكتاليز وكذلك الأكسيديز. تستطيع النمو بنشاط فى نطاق حرارى واسع من ٤ °م حتى ٤٣ °م – أفراد العائلة لا تثبت النيتروجين – تشمل العائلة أربعة أجناس هى :

Genus 1 : *Pseudomonas*

الخلايا فردية ، عصويات مستقيمة أو منحنية ، أبعادها بصفة عامة ٠,٥–١ ميكرون عرضاً x ١,٥–٤ ميكرون طولاً. كيموأورجانوتروفات ، الأيض تنفسى وليس أبداً تخمرى. بعض الأفراد كيموليثوتروفات إختياراً

قادرة على إستعمال H_2 أو CO كمصدر للطاقة. الأوكسجين الجزيئى هو المستقبل العام للإلكترون ، البعض يمكنه أن يختزل النترات إلى نيتروجين عنصرى. هوائيات حتماً ، بإستثناء الأنواع التى تستخدم عملية الدنترة denitrification كأسلوب للتنفس اللاهوائى. موجبات لإختبار الكتاليز النوع المثالى للجنس هو *Pseudomonas aeruginosa*. أفراد الجنس تعيش بكثرة فى التربة وفى المياه العذبة والأوساط البحرية وعلى النباتات ، وتصل إلى الغذاء بأنواعه المختلفة وتفرز صبغات فلوريسنتيه قابلة للذوبان أو للإنتشار فى وسط النمو. البعض يصيب النباتات ويسبب لها أمراضاً نباتية فى غاية الأهمية مثل *P. solanacearum* ويسبب مرض الذبول البكتيرى الجنوبى لكثير من النباتات التابعة للعائلة الباذنجانية Solanacea خاصة البطاطس ، الطماطم ، *P. phaseolicola* ويسبب اللفحة الهالية فى الفاصوليا ، *P. syringae* ويسبب مرض البقعة البنية البكتيرية فى الفاصوليا.

Genus 2 : *Xanthomonas*

أفراده عبارة عن عصويات مستقيمة straight rods ، الخلايا مفرده وذات أبعاد ٠,٢-٠,٨ ميكرون عرضاً x ٠,٦-٢,٠ ميكرون طولاً ، متحركة بوساطة فلاجيلا وحيدة قطبية ، سالبات لجرام ، نموها على بيئات الآجار عادة أصفر اللون. تحصل على طاقتها دائماً بالتنفس وليس أبداً بالتخمر ، ويعمل الأوكسجين الجزيئى كمستقبل للإلكترون ، إختبار الأكسيديز سالباً أو ضعيفاً أما الكتاليز فيكون موجباً.

أفراد الجنس تعيش فى التربة ، وغالباً تصيب النباتات وتسبب لها أمراضاً خطيرة – خاصة وأن لها القدرة على إفراز إنزيمات تحليل المواد البكتينية. هوائيات إجباراً ، درجة الحرارة المثلى لها ٢٥ – ٢٧ ^{o}م – النوع

المثالى type species للجنس هو *X. campestris* من الأمــراض النباتيــة الخطيرة التى تتسبب عن أفراد هذا الجنس ما يلى :

١- *X. campestris* ويسبب مرض العفن الأسود Black rot فى الصليبيات مثل *Raphanus* spp., *Brassica* spp.

٢- *X. phaseoli* ويسبب مرض اللفحة البكتيرية العاديــة فــى الفاصــوليا common bacterial blight of bean

٣- *X. malvacearum* ويســبب مــرض البقعــة الزاويــة فــى القطــن Angular leaf spot of cotton

Genus 3 : *Zoogloea* والنوع المثالى لهذا الجنس هو ميكروب (Z. ramigera)

Genus 4 : *Gluconobacter* والنوع المثالى لهذا الجــنس هــو ميكــروب (G. oxydans)

ثانيا : عائلة Azotobacteraceae : تشمل العائلة أفرادا مستديرة أو بيضية أو عصوية الشكل. بعض الخلايا توجد فرادى أو فى أزواج ، والبعض يكون موادا مخاطية تعمل كأغلفة capsules. تعيش أفراد العائلة أساسا فى التربــة حيث تقوم جميعا بتثبيت النيتروجين الجوى العنصرى فى وجــود ١-٢ % كربوهيدرات بمعدل لا يقل عن ١٥ ملليجرام نيتروجين لكل ١٠ جم يستهلك من الكربوهيدرات ، كما تتواجد بعض الأفراد فى المياه. لا تكــون جــراثيم داخلية endospores ولكن بعض الأنواع تكــون طــور ســكون يســمى " حويصلة cyst " ، بعضها له القدرة على إنتاج صبغات غير ذائبة فى المــاء water-insoluble pigments تتراوح ألوانها ما بين الأصفر والبنى الــداكن مثل النوع *Azotobacter chroococcum* بينما ينتج البعض الآخر صبغات فلوريسنتية ذائبــة water-soluble fluorescent pigments مثــل النــوع

Azotobacter vinelandii. وتحتوى العائلة علـــى أربعـــة أجنـــاس وهـــى

1- *Azotobacter* 2- *Azomonas* 3- *Beijerinckia* 4- *Derxia*

وتتلخص الخصائص المفتاحية key characteristics للتفرقة بين أجناس هذه العائلة فيما يلى :

Cell shape - Extracellular slime production - Growth rate - Catalase reaction - Cyst formation - Presence of lipoidal granules - DNA base ratio.

وعلى ذلك فإن تصنيف العائلة يكون على النحو التالى :

I- Large ovoid cells; most species produce extracellular slime. Rapid growth; catalase positive.

A: Cysts formed; G + C 63-66 %. Azotobacter.

B: Cysts not formed; G + C 53-59 %. Azomonas

II. Small rods producing very tenacious extra cellular slime or gum, and conspicuous internal globular lipoid bodies. Slow growth; catalase may or may not be produced.

A: Lipoid bodies bipolar; G + C 55-59 % catalase positive. Beijerinckia.

B: Lipoid sodies numerous; G + C 70 %. Derxia.

ويعتبر جنس Azotobacter هو الجنس المثالى type genus للعائلـــة. ويختلف جنس Beijerinckia مورفولوجيا عن الأزوتوبـــاكتر فـــى أن خلايـــا الأخير أطول وتحتوى على أجسام دهنية من مـــادة بولىهيدروكســـىبيوتارات (PHB) لامعة فى طرفى الخلية وأيضاً بكثرة إفراز أفراد هذا الجنس (بايرنكيا) للمواد المخاطية فى بيئات الزرع ، وهذه الخاصية تعطى المجـــاميع البكتيريـــة قواما لزجا. كما تتحمل أفراده نطاقاً واسعاً من الحموضـــة (pH ٣,٥ – ٩,٠) ،

كما أن إنتشار أفراده يكون قاصراً علــى الأراضــى الحامضــية والمنــاطق الإستوائية ، وتتميز أفراده أيضاً بعدم إحتياجها للكالسيوم الذى يثبط نموها.

ثالثاً : عائلة Rhizobiaceae : عادة تكون خلايا أفرادها عصوية ، متحركة بواسطة فلاجيلا طرفية قطبية أو تحت قطبية والبعض يتحرك بواسطة ٢-٦ فلاجيلات محيطية. يمكنها إستخدام الكثيرمن الكربوهيدرات مع إفراز مواد لزجة خارج الخلية أثناء نموها. وتضم هذه العائلة لأربعة أجناس ، إثنان منهم تقوم أفرادهم بعملية تثبيت النيتروجين الجوى تكافلياً فى العقد الجذرية لنباتات العائلة البقولية Leguminosae ، والجنســان همــا : *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* أما مجموعة الترمس lupine group فيتخصص معها النــوع البكتيرى *Bradyrhizobium lupini* وهكذا ..

والجنس الثالث بالعائلة هو *Agrobacterium* وأفراده لا تكون عقداً على جذور البقوليات ، ولكنها تسبب تكون نموات غير عادية فى كثير مــن النباتات ، ولا تثبت النيتروجين الجوى. وأفراد الجنس تعــيش فــى التربــة الزراعية وبعضها يصيب النباتات مسبباً لها أمراضــاً بشــكل تورمــات أو إنتفاخات كبيرة والأنواع التالية أمثلة لها :

Agrobacterium tumefaciens ويسبب مرض التــدرن التــاجى crown galls *Agrobacterium rhizogenes* ويسبب مرض الجذر الشعرى hairy root أو woolly root وهو عبارة عن زيادة فى تكوين جذور ليفية عرضية أما النوع *Agrobacterium radiobacter* فقد يستخدم فى مكافحة مــرض التدرن التاجى الذى يسببه النوع الأول وذلك بسبب قدرة هذا الميكروب على إفراز توكسين خارجى يسمى bacteriocin يوقف نشــاط *A. tumefaciens* وهذا يعتبر لوناً من ألوان المكافحة الحيويــة (البيولوجيــة) (biocontrol) biological control.

والجنس الرابع فى هذه العائلة هو Phyllobacterium وتكون أفراده عقداً على أوراق بعض النباتات التابعة لعائلتى Myrsinaceae , Rubiaceae.

رابعاً : عائلة Methylomonadaceae : تشمل جنسان أحدهما تكون أفراده ذات خلايا كروية وهو *Methylococcus* والثانى تكون أفراده عصويات وهو *Methylomonas*. جميع أفراد العائلة كيمواورجانوتروفيه لها المقدرة على أكسدة الميثان أو الميثايل مستخدمة الأوكسجين الجوى كمستقبل أخير للإلكترون. وتنتشر بكثرة فى التربة و الأوساط المائية ، وتشارك الميكروبات المنتجة للميثان methane producers فى دورة الكربون فى الطبيعة حيث تقوم الأولى بأكسدة الميثان فتتيح التخلص من أضراره.

خامساً : عائلة Halobacteriaceae : تضم العائلة جنسين ، هما :

Halobacterium وأفراده عصويات ، Halococcus وأفراده كرويات. والخلايا تحتوى على صبغات ملونة كاروتينية تتراوح من الأحمر ، القرنفلى، البرتقالى المحمر. وتحتاج لنموها تركيزات عالية من الملح (ص كل NaCl) لا تقل عن ٢ مول (أى ١٢ %) فهى محبات للملوحة halophilic حتماً. وتتواجد فى الملاحات والأوساط المائية المالحة ، وعندما تصل إلى الغذاء food تنتج صبغات وتسبب تلون الأغذية المحتوية على نسبة عالية من الملح ، كالسمك المملح ، ومن أمثلة هذه الميكروبات *Halobacterium salinarium*.

أما الأجناس غير محددة النسب فى هذا القسم (part 4) فتشمل :

Genus 1 : *Alcaligenes*

خلايا عصوية ، عصويات مكورة coccal rods أو كرويات ، تتواجد عادة مفردة. كيمواورجانوتروفات تحصل كل طاقتها بالتنفس وليس

بالتخمر. أفراد الجنس شائعة أغلبها مترممات ومنها ما يستوطن الجهاز المعوى للفقاريات ، تتواجد فى منتجات الألبان والبيض المتحلل ، وغيره من الأغذية وفى المياه العذبة وكذلك الأوساط البحرية والترابية. تسبب حالة من القلوية فى البيئات التى تنمو عليها ، وبصفة خاصة اللبن مثل النوع *Alcaligenes viscolactis* مسببه حالة لزوجة فى اللبن أيضاً ومصدر الميكروب *A. viscolactis* هو السماد العضوى ، الأرض ، العلف والماء. وعلى أية حال ، فإن أفراد الجنس رميات غير ضارة ، قد تلوث فى بعض الأحيان محاليل الشرب أو الحقن الوريدى. ومن ثم فإنها قد تؤدى إلى بعض حالات من التسمم عقب العمليات الجراحية postoperative septicemia وكذلك عدوى الجهاز البولى.

Genus 2 : *Acetobacter*

الخلايا إهليجية ellipsoidal إلى عصوية الشكل مستقيمة أو منحنية قليلاً ، تتواجد فرادى أو أزواج أو فى سلاسل. تؤكسد الإيثانول إلى حمض خليك ولذلك تستخدم فى إنتاج الخل vinegar على المستوى الصناعى ، ولكنها إذا وصلت للمشروبات الكحولية alcoholic beverages تضر بها. تتواجد هذه البكتيريا على الفواكة والخضروات والثمار الحامضة souring fruits ، العصائر juices ، الخل ، المشروبات الكحولية.

أفراد الجنس تؤكسد الإيثانول إلى حمض خليك فى الظروف المتعادلة أو الحامضية (pH 4.5) ، وهناك البعض الذى يؤكسد الخلات واللاكتات إلى ك أ٢ + يد٢أ – وهذه تسمى overoxidiers . ومن الأنواع التى تتبع الجنس *A. aceti* وهو النوع المثالى type species للجنس . وهناك أيضاً النوع *A. diazotrophicus* وهو مكتشف حديثاً ، له القدرة على تثبيت النيتروجين الجوى وتحمل الحموضة ، وينمو على بيئات بسيطة من أملاح

معدنية ، كما أن هذا النوع ذو كفاءة عالية فى إنتاج حمـــض الجلوكونيـــك ، ويستخدم الآن على مستوى تجارب لهذا الغرض.

Genus 3 : *Brucella*

خلاياه عصويات مكورة coccobacilli أو عصويات قصـــيرة ذات أبعاد ٠,٥-٠,٧ x ٠,٦-١,٥ ميكرون ، تتواجد فرادى ونادراً فى سلاســـل قصيرة ، لا تكون كبسول capsule غير متحركة ، لا تكون جراثيم داخلية ، سالبات لجرام ، لا تظهر بها مناطق صبغية بـــالقطبين bipolar staining. كيمواورجانوتروفيه تحصل على طاقتها بـــالتنفس ، تحتـــاج لنموهـــا إلـــى الفيتامينات ثيامين ، نياسين ، وبيوتين أما بانتوثينات الكالسيوم فتشجع النمو. أما الهيمين hemin (X factor) و coenzyme I (V factor) فـــلا تلزمهـــا. أفراد الجنس موجبات للكتاليز. الأكسيديز عادة موجب ولكـــن B. ovis , B. neotomae فسالبات للأكسيديز. ممرضات وطفيليات للثدييات – داخل خلوية إختياراً مع مجال عوائلى واسع نسبياً. النوع المثالى للجـــنس type species هو *Brucella melitensis*. أفراد الجنس تســـبب مـــرض البروسيللوســـيس Brucellosis الذى يعرف أيضاً بالحمى المتقطعة ، حمى مالطـــة (الحمـــى المالطية) ، الحمى المتموجه undulant fever والأفراد المسببة لها هى :

١- *Brucella melitensis* : عادة ممرضه للماعز goats والأغنام sheep ، لكن يمكنها أن تصيب الماشية والإنسان.

٢- *Brucella abortus* : عادة ممرض للماشية مسببة لها الإجهاض لكنهـــا تستطيع أيضاً إصابة أحياء أخرى بما فيها الإنسان.

٣- Brucella suis : عادة ممرضة للخنازير pigs لكنها أيضـــاً تســـتطيع إصابة الأرانب البرية hares وحيوان الرنة reindeer كما تصـــيب أنواعـــاً أخرى من الأحياء بما فيها الإنسان.

٤- *Brucella neotomae* : عزل من فأر الخشب الصحراوى.

٥- *Brucella ovis* : ممرض للأغنام حيث يسبب لها حالة إلتهاب البربخ epididymitis فى الأكباش rams وتسبب أحياناً الإجهاض abortion للنعاج ewes.

٦- *Brucella canis* : وهو ممرض للكلاب مسبباً حالة إلتهاب البربخ epididymitis وكذلك الإجهاض.

ومن العرض السابق يتضح أن الأنواع الثلاثة *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* ممرضة أيضاً للإنسان.

ولما كانت الحيوانات هى العوائل الأولية لهذا الكائن الممرض ، فإن إصابة الإنسان بمرض البروسيللوسيس تكاد تكون على الدوام من ملامسة حيوانات مصابة أو إستخدام لبن أو غيره من منتجات لبنية من تلك الحيوانات. ولا توجد طريقة مفيدة لإنتاج مناعة صناعية ناشطة لمرض البروسيللوسيس فى الإنسان.

ومن الجدير بالذكر، أنه لا يظهر على الماشية المصابة نفسها أى مرض غير شيىء من الهزال ، ولكن الإنسان إذا شرب لبنها بدون تعقيمه بالغلى أو البستره يصاب بالمرض. وقد تحدث العدوى كذلك من تلوث الطعام والشراب ببول المصابين أو حاملى لعدوى إذ أن الميكروب قد يوجد فى بولهم. وقد تحدث العدوى بواسطة دخول الميكروب عن طريق الجلد أو بواسطة الجروح أو الأغشية المخاطية كما يحدث أحياناً للأطباء والبكتيريولوجيون الذين يشتغلون بهذا الميكروب فى المعمل. كما أن العدوى قد تحدث كذلك بواسطة إستنشاق غبار ملوث ببول مريض أو غير ذلك. وعلى ذلك ، فإن مرض الحمى المتموجه undulant fever قد يمكن العدوى به بالطعام والشراب والملامسة وعن طريق التنفس بالغبار الملوث.

Genus 4 : *Bordetella*

خلاياه عصويات مكورة دقيقة minute coccobacilli أبعادها ٠,٢-٠,٣ ميكرون عرضا ، ٠,٥-١,٠ ميكرون طولا ، تتواجد فرادى أو في أزواج ونادراً جداً في سلاسل. غير متحرك أو متحرك بواسطة فلاجلات جانبية عديدة. سالبات لجرام ثنائية القطب bipolar. تظهر مستعمراتها على بيئة أجار البطاطس والجليسرول والدم - ناعمة ، محدبة ، كمثرية الشكل لامعة شفافة تقريباً ومحاطة بمنطقة تحلل دموى zone of hemolysis لكن بدون حافة محددة.

أفراد الجنس كيمواورجانوتروفيه تحصل كل طاقتها بالتنفس وليس أبداً بالتخمر ، تحتوى على الكتاليز ، سالبة لإختبار الإندول ، لا تسيل الجيلاتين ، تجعل لبن عباد الشمس قلوياً. تحتاج إلى حمض النيكوتين ، السيستئين والميثونين. لا تحتاج إلى الهيمين hemin (X factor) ولا إلى (V factor) coenzyme I هوائيات حتماً. درجة الحرارة المثلى لها ٣٥-٣٧ م تعتبر طفيليات وممرضات بالجهاز التنفسى للثدييات حيث تسبب مرض السعال الديكى whouping cough (Bordetella pertussis) أو مرضا شبيها به whouping cough-like disease (Bordetella parapertussis) فى الإنسان.

وأحد الأنواع مثل *Bordetella bronchiseptica* يسبب مرض إلتهاب شعبى رئوى bronchopneumonia فى الكلاب ، خنازير غينيا ، وأنواعاً حيوانية أخرى. وهذا النوع الأخير - أحيانا - قد يصيب الإنسان أيضاً. ويسبب هذا النوع فى الكلبيات canines (الكلاب ، الذئاب ، والثعالب) أمراضاً مثل kennel cough ، pneumonitis ، وذلك من خلال توطنه فى المسالك التنفسية لها.

النوع المثالى type species للجـنس هـو *Bordetella pertussis* مسبب مرض السعال الديكى الذى يعتبر من أشد الأمراض المعدية خطـورة على حياة الأطفال وخصوصاً الرضع منهم. وهو يصيب الجهـاز التنفسـى ويتميز عن غيره من أنواع السعال الأخرى بتكرار نوبات السعال الزفيريـة المتعاقبة التى تنتهى فى أغلب الأحيان بشهيق شديد يحدث صوتاً عالياً مثـل صياح الديك. ومن المعروف أن الميكروب ينتشر فى الجو من رذاذ الطفـل المريض عندما يسعل أو يعطس ، كما أنه يوجد بكثرة فى لعاب الطفل وفى المخاط الذى يخرج من الصدر عقب السعال وخاصة فى الأسبوع الأول من المرض ، وهى المدة التى لا يكون المرض فيها قد عرف بعد. وينتشر هـذا المرض فى الشتاء والربيع. ويختلف هذا المرض عن الأمـراض المعديـة infectious diseases الأخرى فى أنه يصيب الرضع الذين تقل أعمـارهم عن ستة شهور ولكنه نادراً ما يصيب البالغين أما الشيوخ (كبار السن) فقـد يصابون بهذا المرض.

Genus 5 : *Francisella*

عصويات صغيرة جداً مكورة إلى إهليجية متغيرة الشـكل بدرجـة كبيرة very pleomorphic يظهر بها فى الغالب منطقتين قطبيتـين للصـبغ bipolar staining عند إتباع تكنيكات معينة ، غير متحركة ، سالبات لجرام، توجد كثيراً فى المياه الطبيعية ، وقد تكون متطفلة على الإنسان ، الثـدييات الأخرى ، الطيور ، ومفصليات الأرجـل. النـوع المثـالى للجـنس هـو *Francisella tulorensis* وهو مسبب مرض التيولاريميا tularemia فـى الإنسان وكثير من الحيوانات ذوات الدم الحار الأخرى. وينتقل الميكـروب بواسطة مفصليات الأرجـل ماصـة الـدم blood-sucking arthropods ،

الإستنشاق ، البلع ، الملامسة. وتعتبر الطريقة الأخيرة للعدوى نادرة جداً بين بني البشر ، لكن الشائع هو عدوى الإنسان بملامسة الحيوانات.

ومرض الثيولاريميا مثل الطاعون plague ، في الأساس يعد مرضاً يصيب الحيوانات البرية (غالبا الأرانب و ground squirrels) تنتقل من حيوان لحيوان عبر ناقلات متنوعة من مفصليات الأرجل مثل الذباب ، البراغيث ، القمل ، القراد – والأخيرة أكثرها أهمية.

ولما كانت الأرانب تمثل المصدر الرئيسى لإصابة الإنسان بهذا المرض ، فإن هذه الظاهرة المرضية تسمى فى معظم الأحيان " حمى الأرانب rabbit fever ".

Genus 6 : *Thermus*

أفراد الجنس تتوطن بالأماكن المائية عالية الحرارة سواء الطبيعية مثل الينابيع المائية الساخنة أو المقامة بفعل الإنسان مثل تانكات المياه الساخنة ، النوع المثالى للجنس هو *Thermus aquaticus*

يدخل تحت هذا القسم أيضاً البكتيريا الكروية والعصويات الكروية ، السالبات لجرام ما يلي :

I : Family Neisseriaceae

وتضم أربعة أجناس هي :

Neisseria, Branhamella, Moraxella, Acinetobacter

II : Genera of Uncertain Affiliation

وهما إثنان : Lampropedia , Paracoccus

بخصوص العائلة ، فتضم كائنات مستديرة spheres في أزواج أو تكتلات تتفلطح (تستوى) flatten جوانب إتصال الخلايا ببعضها ، وأحياناً تبدو عصويات الشكل فى أزواج أو سلاسل قصيرة. ليس لها فلاجلات ،

بعض الأنواع تبدى نوعا من الحركـة الإرتعاشـية twitching motility ، سالبات لجرام ، بعض الأنواع تكون صبغة الزانثوفيـل ، بعـض الأنـواع يلزمها متطلبات نمو معقدة عند إجراء تنميتها عقب عزلها مباشرة ثم لا تلبث بعد فترة أن تنمو على بيئات محددة بسيطة. البعض ينتج إنزيمات الكتـاليز والسيتوكروم أكسيديز. هوائيات ، درجـة الحـرارة المثلـى ٣٢-٣٧ °م . الأجناس : *Moraxella, Branhamella, Neisseria* عبارة عـن بكتيريـا طفيلية parasitic أما الجنس الرابـع وهـو *Acinetobacter* فـأفراده إمـا مترممات saprophytes أو ممرضات فرصية opportunistic pathogens

Genus 1 : *Neisseria*

أفراد الجنس كرويات cocci تتراوح أقطارها مـن ٠,٦ إلـى ١,٠ ميكرون ، تتواجد عادة مفردة وغالباً فى أزواج تتسطح (تـتفلطح) flatten جوانب إتصال الخلايا ببعضها. تتكاثر بالإنقسـام الثنـائى فـى مسـتويين متعامدين بزاوية حادة ، وبذلك ينشأ التجمع على هيئـة أربعـات tetrads. تحتاج هذه البكتيريا متطلبات نمو معقـدة ، بعـض الأنـواع محللـة للـدم hemolytic ، كيموأورجانوتروفيه يمكنها الإفادة من قله من الكربوهيدرات. تنتج إنزيم الكتاليز والسيتوكروم أوكسيديز. طفيليات على الأغشية المخاطية في الثدييات mammals

النـوع المثـالى type species للجـنس هـوميكروب *Neisseria gonorhoeae* وإسمه الدارج gonococcus ، وهو مسـبب مـرض السـيلان gonorrhoea. وينتقل المرض أساسا عن طريق الإتصـال الجنسـى sexual intercourse بشخص مصاب. كما ينتقل المرض عن طريق الإتصال الجنسـى الشاذ perverted sexual act (فى منطقة الشرج) سواء كان بين رجل ورجـل أو كان بين رجل وإمرأة وهو ما يؤدى فيما بعد إلى إلتهابات المسـتقيم والقنـاة

الشرجية السيلانى gonorrheal proctitis. كما قد تدخل الجونوكوكات gonococci إلى الشرج rectum عبر الإفرازات القيحية purulent secretions التى تنساب من الشق الفرجى pudental cleft للنساء والبنات المصابات. وقد ينتقل المرض كذلك عن طريق إستخدام ترمومترات ملوثة بالميكروب سواء بعوضها فى منطقة الشرج أو فى الفم. كما تنتقل العدوى كذلك إلى الأطفال عن طريق إستخدام فوط وأدوات الحمام الملوثة بالميكروب أثناء من أشخاص مصابين. وتنتقل العدوى إلى الأطفال الرضع حديثى الولادة عن طريق إصابتهم بالميكروب الولادة من مجرى قناة الولادة من أمهات مصابة.

وفترة الحضانة (وهى التى تمضى منذ الإصابة بالميكروب وحتى ظهور الأعراض) تتراوح بين ١-١٥ يوم. ويتم تشخيص المرض عن طريق أخذ عينات من إفرازات قناة مجرى البول الخارجية seminal vesicles, prostate, urethra للذكور. وكذلك من rectum, cervical canal, urethra ومن غدد مدخل المهبل فى النساء. كما تؤخذ عينات من المهبل، قناة مجرى البول rectum, urethra فى البنات. وتزرع العينات على بيئات مناسبة ؛ ثم يجرى فحص المزارع الناتجة عن طريق التحضيرات الميكروسكوبية. كما يمكن التأكد من تشخيص هذا الميكروب عن طريق الإختبارات السيرولوجية serological (Bordet-Gengou phenomenon) tests أيضاً هناك إختبار الحساسية بالجلد skin-allergic test بالفاكسين gonococcal vaccine. ولابد من مراعاه أن كلا من الإختبارات السيرولوجية وإختبار الحساسية ما هى إلا عوامل مساعدة فى التشخيص لكنها فى حد ذاتها لا تصلح كدليل على الإصابة بالميكروب.

ومن أعراض السيلان عند الرجال إلتهاب حاد لقناة مجرى البول الخارجية acute arethritis حيث يشعر المريض بحرقان أثناء التبول ، كما

يلاحظ ظهور إفرازات صديدية تخرج من قناة مجرى البول الخارجية ، وقد تترك أثراً على ملابسه الداخلية ، وفي بعض الأحيان قد تظهر قطرات من الدم في نهاية التبول . وتمتد الإلتهابات لتشمل الغدد المجاورة بقناة مجرى البول الخارجية مثل غدد tyson ، cowper. كما تمتد أيضاً الإلتهابات لتشمل غدة وقناة البروستاتا ، وقد ينتهي الأمر بحدوث خراجات صديدية بالبروستاتا prostatic abscesses مما يؤدي إلى زيادة الصعوبة أثناء التبول dysuric disorders والشعور بالآلام في منطقة العانة والشرج. كما قد يمتد الإلتهاب ليشمل الحويصلات المنوية seminal vesicles وقنواتها وكذلك البربخ (إلتهاب البربخ) epididymitis

وهناك النوع *Neisseria meningitides* وإسمه الدارج meningococcus وهو مسبب مرض إلتهاب السحايا الوبائي epidemic meningitis أي إلتهاب السحايا meninges. ويوجد الميكروب في البداية في السائل المخ شوكي cerebrospinal fluid مسبباً حالة " للحمى المخ شوكية الوبائية epidemic cerebrospinal fever ". كما يوجد الميكروب أيضاً في البلعوم الأنفي nasopharynx ، الدم ، الملتحمة ، في المفاصل وبثرات في الجلد. أحياناً ، يوجد في الإفرازات التناسلية venereal discharges ولقد وجد أيضاً في البلعوم الأنفي للإنسان (من الحاملين للمرض الأصحاء). ويمكن تعيين سبعة أنتيجينات antigens تخصصية هي A, B, C, D, X, Y, Z للتمييز بين السلالات المختلفة من *N. meningitides*.

وعادة يكون الميكروب *Neisseria meningitidis* مصحوباً بالحالة الوبائية المسماة epidemic cerebrospinal meningitis. ومن العوامل الهامة في الإجتياح المنجوكوكي meningococcal invasiveness ما يلي : السكريات العديدة بالكبسول ، البيليات ، IgA protease. ولو أن هناك تسعة

سلالات تم التعرف عليها وتختلف فيما بينها من حيث التركيب الأنتيجينى للكبسول ، فإن الطرز السيرولوجية A, B, C تعد مسئولة عن معظم حالات الإصابة التى عرفت. وهناك عامل ضراوه آخر ، له تـأثيرات باثولوجية فعالة، وهو السكريات العديدة الدهنية (endotoxin) lipopolysaccharide التى تتحرر من الجدار الخلوى.

Epidemiology and Pahogenesis of Meningococcal Disease

تأخذ أمراض الميكروب *Neisseria meningitides* فـى حدوثها طابع الوباء epidemic أو الحالات الفردية sporadic فـى أواخـر فصل الشتاء أو أوائل فصل الربيع. والخازن المستمر للعدوى هو الإنسـان الـذى يأوى المسبب المرضى فى البلعوم الأنفى nasopharynx. وحمل الميكروب بهذه الصفة والتى قد يستمر فيها من أيام قليلة إلى شهور عدة ، توجـد فـى ٣-١٠ % من سكان المدن البالغين ، وقد تزيد عـن ٩٥ % فـى الـدوائر العسكرية. وينتشر المرض بإنتقال المسبب المرضى من الحاملين لـه إلـى الأفراد غير المنيعين بداخل أفراد العائلة أو الثكنات العسكرية. ومـن أكثـر المعرضين للإصابة الأطفال الصغار فى عمر ٦-٢٤ شهراً والأطفال الأكبر والبالغين الصغار فـى عمـر ١٠-٢٠ سـنة . ويعتبـر الميكـروب N. meningitides ثانى أكثر المسببات حـدوثاً لحالـة " الإلتهـاب السـحائى meningitis " فـى الأطفـال الصـغار وذلـك بعـد الميكـروب الآخـر *Haemophilus influenzae*

ومـن أشـد المضـاعفات خطـورة للإصـابة meningococcal pharyngitis هو حدوث الظاهرة المرضية المسماة "meningococcemia " حيث تدخل المننجوكوكات إلى الأوعية الدموية بسرعة وترشح إلى السـحايا meninges وتنتج أعراض إلتهاب السـحايا meningitis ، وهـى الحالـة

المألوفة كثيراً كمضاعفات فى الأطفال ، وقد يتحول إلى مرض داهم ترتفع معه نسبة الوفيات ، وتتسم بداية المرض بالعنف مع الحمى حيث تصل درجة الحرارة إلى أعلى من ٤٠°م ، الإرتعاش أو القشعريرة chills ، هذيان الحمى delirium ، إنتشار شديد لحالات إزرقاق الدم ، صدمة ، غيبوبة. وقد يحدث تعميم للتجلط الداخلوعائى ، فشل القلب ، عطل بالغدد الكظرية adrenal glands والوفاة في خلال ساعات قليلة.

5. Gram negative facultatively anaerobic rods

أفراد هذا الجزء عصويات صغيرة سالبة لجرام ، متحركة أو غير متحركة ، بعضها يكون كبسول capsule ، كيمواورجانوتروفيه ، تحصل على طاقتها بالتنفس والبعض يحصل عليها بالتخمر. تنمو جيداً فى البيئات الصناعية هوائياً ولا هوائياً إختيارا. البعض منها يتطلب لنموه متطلبات خاصة ، تنتج الحمض من تخمير الجلوكوز ، الكربوهيدرات الأخرى والكحولات وعادة تنتج غاز (aerogenic) والبعض لا ينتج الغاز (anaerogenic). يدخل تحت هذا الجزء عائلتين هما :

Family 1 : Enterobacteriaceae

Family 2 : Vibrionaceae

وتسعة أجناس غير محددة النسب genera of uncertain affiliation

أولاً : عائلة Enterobacteriaceae : أفرادها وثيقة الصلة بحياة الإنسان ، يمكنها تخمير كثير من السكريات مع إنتاج أحماض وغازات يد$_2$ ، ك أ$_2$. أجناسها تتميز عن بعضها على أساس مجموعة من الصفات – من أهمها تخمير سكر اللاكتوز ، ونوعية نواتج تخمير الجلوكوز. بعض أفرادها يعيش فى القناة الهضمية للإنسان والحيوان دون أن تسبب أعراضاً مرضية إلا إذا كثرت فى أعدادها ، كما أن البعض يسبب أمراضاً معوية خطيرة للإنسان

والحيوان ، ومنها ما يسبب أمراضاً للنبات – الأمر الذى يؤدى إلى خسارة إقتصادية ، ولو أن الكثير منها رميات. وتشمل العائلة على ١٢ جنساً مصنفه فى خمسة قبائل tribes على النحو التالى :

Tribe 1 : Escherichieae

مثل أجناس *Escherichia* , *Edwardsiella* , *Citrobacter* , *Salmonella* , *Shigella*

Tribe 2 : Klebsielleae

مثل أجناس *Klebsiella* , *Enterobacter* , *Hafnia* , *Serratia*

Tribe 3 : Prioteeae : *Proteus* مثل جنس

Tribe 4 : Yersinieae : *Yersinia* مثل جنس

Tribe 5 : Erwinieae : *Erwinia* مثل جنس

ويمكن التفرقة بين أفراد العائلة أى بين الخمسة مجاميع الرئيسية (tribes) على ضوء الخصائص التصنيفية التالية :

Fermentation pattern - M.R. test - V.P. test - Phenylalanine deamination - Nitrate reduction - Urease. - Indole production - Lactose fermentation - Growth in KCN - Optimal temp. for growth

وفيما يلي ملخصاً عن أجناس العائلة :

Genus 1 : *Escherichia*

هو أكثر الأجناس دراسة وأفراده لها نشاط أيضى كبير ولكنها لا تكون مركب الأسيتوين (a.m.c.) ولا تستطيع إستعمال حمض اليوريك كمصدر وحيد للنيتروجين ولا السترات كمصدر وحيد للكربون ، وتتواجد فى الأمعاء الغليظة للإنسان ، وتعزل من البراز ومياه المجارى ، وعندما تتواجد فى الأمعاء بأعداد كبيرة تسبب حالات مرضية مثل أمراض البواسير والناسور ،

وعندما تغزو المثانة تسبب إلتهاباً فيها (cystitis) وكذلك فى حـوض الكليـة pyelitis. النوع المثالى type species للجنس هو ميكروب *E. coli*.

Genus 2 : *Edwardsiella*

يتوطن فى أمعاء الثعابين والنوع المثـالى هـو *E. tarda* بصـفة طبيعية، ولقد عزل من براز الإنسان الذى يعانى من إسهال وكذلك مـن دم وبول الإنسان والحيوان ، وقد يوجد فى المياه.

Genus 3 : *Citrobacter*

Genus 4 : *Salmonella*

ويضم هذا الجنس مسـببات الحمـى التيفوديـة tphoid fever (S typhi). والباراتيفوديـة paratyphoid fever (*S. paratypi*) ومسـببات العدوى الغذائيـة food infections مـن السـالمونيلات salmonellae ويطلق على هذه العدوى سالمونيللوسيس Salmonellosis وتنشأ عن :

S. typhimurium or *S. enteritidis*

Genus 5 : *Shigella* :

وأفراد هذا الجنس تسبب مرض الدوسنتاريا الباسـيللية bacillary dysentery (*S. boydii* , *S. sonnei* , *S. flexneri* , *S. dysenteriae*) والذى يسمى أحيانا بالشيجيللوسيس shigellosis. مرض السالمونيللوسـيس salmonellosis يعتبر من أهم أعراض العدوى الغذائيـة البكتيريـة حيـث تحدث الإصابة بالمرض عند تناول أغية ملوثة ببكتيريا *S. typhimurium* أو *S. enteritidis*. وتتلخص أعراض الإصابة فى آلام فى الـبطن وإسـهال ، وشعور بقشعريرة chills وقىء متكرر مع ضعف شديد. وفى بعض حالات الإصابة تكون الأعراض شديدة القسوة وفترة الحضانة لهذا المـرض فـى حدود ٧-١٢ ساعة. وتجدر الإشارة هنا إلى أن فترة الحضانة فى حالة حمى التيفود typhoid fever (*S. typhi*) تتراوح بين ٧-١٤ يوماً وهذا هو الفرق

الواضح بين حالتى الـ Salmonellosis ، Typhoid fever إضافة إلى إختلاف المسببات الميكروبية والأعراض.

أما مرض الدوسنتاريا الباسيلية فيتميز بالحمى وتقلصات الأمعاء ومغص البطن عند الجس ، وإسهال مدمم ويحتوى البراز على كمية كبيرة من المخاط والصديد بالإضافة إلى الدم. وفي الحالات الشديدة من الإصابة تكون الأعراض أكثر تعقيداً ، والوقت اللازم لظهور هذه الأعراض يكون فى حدود ١-٧ أيام ، وعادة يكون أقل من أربعة أيام.

Genus 6 : *Klebsiella*

أفراده تنتج مادة الأسيتوين (a.m.c.) ، وتنتشر بكثرة فى الطبيعة فى التربة ، براز الإنسان والحيوان ، مياه المجارى والماء. وتوجد طبيعيا فى القنوات المعوية للإنسان والحيوان ، ولقد عزلت مصاحبه لحالات باثولوجية مثل حالات إلتهاب مجرى البول وكذلك إلتهاب المسالك التنفسية العليا.

والنوع المثالى type species للجنس هو ميكروب *K. pneumoniae*

Genus 7 : *Enterobacter*

أفراده تتشابه فى خواصها تقريباً مع أفراد الجنس السابق مباشرة ولكنها متحركة ، أورنثين (+) ، لاكتوز (+) أى الجنس السابق (*Klebsiella*) فأفراده غير متحركة وكذلك أورنثين (-). والنوع المثالى type species للجنس هو *E.aerogenes*. ويستعمل فى إختبارات الكشف على صلاحية المياه للشرب والإستعمالات المنزلية وكذلك فى الكشف عن تلوث الأغذية والألبان بمصادر برازية.

Genus 8 : *Hafnia*

وهو يماثل جنس Klebsiella لكن يختلف عنه فى أنه غير مكون للكبسولة not encapsulated ، علاوة على بعض الإختلافات الأخرى.

Genus 9 : *Serratia*

تحتوى أفراد هذا الجنس على صبغات حمراء والنوع المثـالى هـو *S. marcescens* وتحتوى خلاياه على الصبغة الحمراء الداكنـة brick red خاصة على بيئات الآجار المغذى (N.A) عند درجة حرارة الغرفة ، وهـذا يساعد فى التعرف على وجود الميكروب ، ولذلك فإن تلوث الغذاء أو الألبان ومنتجاتها بهذا الميكروب يؤدى إلى تلونها باللون الأحمر.

Genus 10 : *Proteus*

أفراده لها قدرة عالية على تحليل السكريات منتجة حمض وغـاز ، محبه للحرارة المتوسطة ، تقوم بكثير من عمليات فساد اللحـوم والأغذيـة البحرية والبيض وتعطى رائحة تعفنية ، وإذا وجدت فى الأغذية غير المثلجة بأعداد كبيرة فإنها تسبب حالات تسمم ، ومنها ميكروب *P. vulgaris*

ويعرف من الجنس خمسة أنواع هى : , *P. vulgaris* , *P. mirabilis* *P. morganii* , *P. rettgeri* , *P. Incenstans* وهذه الأفراد تلى ميكـروب *Echerichia coli* فى تكرار تواجدها مسببة إصابات فى الجهـاز البـولى. ويتسبب نشاطها فى إفراز إنزيم اليوريز فإنها أكثر الأسباب إضراراً خاصة بالكلى kidneys. كثيراً ما يعزل أفراد هذا الجنس من البراز لتلك الأشخاص الذين يعالجون بالمضادات الحيوية ، وعزلـت مـن حـالات تعـانى مـن الدوسنتاريا الحادة ، كما عزلت مرات من الدم.

Genus 11 : *Yersinia*

أفراده تسبب أنواعاً خطيرة من الأمراض فى الإنسان والحيوانـات والقوارض ، مثل مرض الطاعون Plagne ويسـببه ميكـروب *Yersinia pestis* فى الإنسان والفئران rats والسـنجاب الأرضـى ground squirrel وقوارض أخرى. وينتقل الميكروب من فار إلى فار إلى الإنسـان بواسـطة برغوث الفار rat flea

Genus 12 : *Erwinia*

أفراد الجنس مرتبطه بمياه النبات كممرضات حيث أن الغالبية من أفراد الجنس والذى يضم حوالى ١٣ نوعاً ، مترممات أو مكونات للفلورا السطحية المعايشة للنبات epiphytic flora. ولو أن هناك نوعاً واحداً قد عزل من عوائل حيوانية وبشرية. ومن الممرضات النباتية ما يسبب إتلاف النباتات ، إتلاف الخضروات والفواكه ومنها ما يلى :

١- *E. amylovora* : ويسبب النارية fire blight لمعظم النباتات التابعة للـ pomoideae وبعض الأنواع التابعة لعائلة Rosaceae ومن أشهرها اللفحة النارية فى الكمثرى fire blight of pear

٢- *E. tracheiphila* : ويسبب الذبول البكتيرى bacterial wilt الوعائى vascular wilt فى القرعيات Cucurbita spp مثل الشمام والخيار.

٣- *E. carotovora* : ويسبب العفن الطرى soft rot بصفة خاصة فى أنسجة التخزين فى الخضر فيصيب المرض الجزر والبطاطس والبصل والكرنب وغيرها.

ثانيا : عائلة Vibrionaceae : خلايا أفراد هذه العائلة عصويات مستقيمة ، أو منحنية ، وعادة متحركة بواسطة فلاجلات قطبية ، ولو أن بعض الخلايا تمتلك أيضاً فلاجلات جانبية بالإضافة للقطبية. كيمواورجانوتروفيه تستطيع أن تعيش تخمريا fermentatively وكذلك تنفسيا respiratory ، موجبة للأكسيديز ، عديد من الأنواع لها المقدرة على إنتاج بيوإثيلين جليكول من الجلوكوز والبعض يحلل البروتينات والبعض الآخر ينتج الإندول. عادة تتواجد فى المياه العذبة أو مياه البحار وأحيانا فى الأسماك أو الإنسان. وعلى هذا يمكن القول بأن مفتاح تصنيف العائلتين بهذا الفصل يكون على النحو التالى :

I. Motile by peritrichous flagella ; oxidase-negative

Family I. Enterobacteriaceae

II. Motile by polar flagella; oxidase positive

Family II. Vibrionaceae

تضم عائلة Vibrionaceae خمسة أجناس وهم :

Vibrio, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Photobacterium*, *Lucibacterium*

وفيما يلي سوف نلقى الضوء على كل من هذه الأجناس :

Genus 1 : *Vibrio*

يعتبر الجنس المثالى type genus للعائلة ، كما أن النوع المثالى لهذا الجنس هو *V. cholerae* وهو مسبب مرض الكوليرا. والجدير بالذكر أن هذا الميكروب قد عرف منه أربعة طرز بيولوجية biotypes وهى :

1- *V. cholerae* biotype *cholerae*
2- *V. cholerae* biotype *eltor*
3- *V. cholerae* biotype *proteus*
4- *V. cholerae* biotype *albensis*

ولقد تم إكتشاف الطراز " الطور eltor " فى مصر عام ١٩٠٥ فى مركز عزل الحجاج العائدين من الأراضى الحجازية فى الطور. ويوجد الطراز الأول biotype cholerae في الجهاز المعوى للإنسان وكذا الحيوانات التى تعانى من الكوليرا أو الإسهال البسيط والأصحاء الحاملين للميكروب وأيضاً وجد الميكروب فى المياه وأحياناً الأغذية. والطراز الثانى biotype eltor يتوطن فى نفس الأماكن التى يتوطن فيها الطراز الأول biotype cholerae ولكن يستطيع أن يعيش فترات أطول فى الأغذية عن الطراز الأول.

أما الطراز الثالث biotype proteus فيتواجد فى الجهاز المعوى أو براز الإنسان والطيور ، ويسبب حالة إلتهاب معدى معوى gastroenteritis وقد تسمى cholera nostras. أما الطراز الرابع biotype albensis فيوجد

فى الماء العذب ، براز الإنسان ، وفى الصفراء bile. ومــن المعــروف أن الكوليرا مرض شديد الحدة ، عظيم الخطر يصيب الإنســان وينتشــر بــين الطبقات الفقيرة فى الأحياء المزدحمة ويجتاح البلاد التى تفتقر إلى الخدمات الصحية الأساسية من توفير المياه الصالحة للشرب ، والصــرف الصــحى للفضلات. ولقد كان تلوث المياه هو السبب الرئيسى لحدوث الأوبئة الكاسحة فى البلاد التى توطنت فيها الكوليرا ، والمعروف أن الأعــراض المرضــية تحدث بعد أن تستعمر خلايا الميكروب الأمعاء الدقيقة ويخــرج منهــا بعــد إنحلالها توكسين toxin شديد السمية يسبب الإسهال الشديد والقــىء اللــذان سرعان ما يحدثان الجفاف الشديد والصدمة وحموضة الدم والوفاة.

كما يحتوى هــذا الجــنس علــى أنواعــا أخــرى مــن أشــهرها *V. parahaemolyticus* والذى يسبب الحالة المرضية المسماة فبريوســيس vibriosis. والموطن الطبيعى لهذا الميكروب هو البيئات البحرية ، الأطعمة البحرية وبراز المرضى بالإلتهاب المعوى الحاد acute enteritis. ولقد وجد الميكروب فى السمك الخام غير المطهــى والرخويــات المختلفــة وبعــض الصدفيات مثل القواقع والمحار ، كما وجد أيضاً فى لحم الكابوريا المطهــو. وبالتالى فإن هذه الأغذية تعد من أهم وسائل إنتقال مرض الفبريوسيس.

Genus 2 : *Aeromonas*

النوع المثالي type species لهذا الجنس هــو *A. hydrophila* والــذى يسبب مرض الساق الأحمر فى الضفادع red leg in frogs ، وهــو ممــرض للثعابين snakes إذ يسبب لها septicemia ، stomatitis. أيضــا قــد يســبب إصابات فى أسماك المياه العذبة ، وقد يكون ممــرض ثــانوى أى secondary invader للأسماك المصابة بفيروس. يتواجد الميكروب فى المياه العذبــة غيــر الملوثة.

Genus 3 : *Plesiomonas*

النوع المثالي type species لهـذا الجـنس هـو *P. shigelloides* وعزل من براز الإنسان والقرود ، من العقد الليمفاويـة للكلبيـات canines وأجنة الدجاج الميت وهناك تقارير علمية تشير إلى حالات إنتشار لمـرض الإلتهاب المعدى المعوى المعدى gastroenteritis infectious للإنسان كان سببها هذا الميكروب.

Genus 4 : *Photobacterium*

يتوطن أفراد هذا الجنس فى مياه البحار ، أسطح ، القنوات الهضمية لبعض الأسماك البحرية والأعضاء المستضيئة lumirous organs لـبعض الأسماك والـ cephalopods وهى رأسيات الأرجل cephalopoda وتعـد طائفة من الرخويات. والنوع المثالى للجنس هو *P. phosphoreum* وهـو يخمر السكريات منتجاً خليطاً من الأحماض العضوية ويتميز بقدرتـه علـى إنتاج ضوء مرئى (إستضاءة) مـن خـلال عمليـة الإستضـاءة الحيويـة luminescence ويعيش فى البحار ويحتاج لنموه نسبة من الملوحة لا تقـل عن ١ % من ص كل ، ويكثر عزله من خياشيم الأسماك البحرية.

Genus 5 : *Lucibacterium*

أفراد هذا الجنس تتوطن مياه البحار وتتواجد أيضـاً علـى أسـطح الحيوانات البحرية الميتة.

ثالثاً : الأجناس غير محددة النسب التى يضمها هذا الجزء

وعـددها تسـعة " ٩ " وهـى *Zymomonas*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Haemophilus* , *Pasteurella* , *Actinobacillus*, *Cardiobacterium* , *Streptobacillus* , *Calymmatobacterium*

وفيما يلى سوف نلقى الضوء على هذه الأجناس :

Genus 1 : *Zymomonas*

أفراده كيموأورجانوتروفيه تخمر الجلوكوز أو الفركتوز بقوة منتجة كميات جزيئية متساوية من الإيثانول و ك أ٢ – من خلال مسار إنتر دودوروف Enter-Doudoroff pathway. ومن أنواع الجنس *Zymomonas mobilis* وكان يسمى سابقاً *Saccharomonas lindneri* or lindneri *Pseudomonas* وهو النوع المثالي للجنس. وهناك أيضاً النوع *Zymomonas anaerobia* وكان يسمى سابقاً *Saccharomonas anaerobia* وله إسم دارج وهو cider sickness organism لأنه يتواجد في السيدر الفاسد tainted cider، ويعرف في إنجلترا بمرض السيدر cider sickness وتسبب الرائحة الكريهة unpleasant flavor من تراكم الأسيتالدهيد. أيضاً يتواجد نفس النوع في البيرة الفاسدة tainted beer وحيث تنشأ بها رائحة كريهة أيضاً ولكن أسوأ من الحالة السابقة بسبب تزايد إنطلاق يد٢كب.

Genus 2 : *Chromobacterium*

أفراده تحصل على طاقتها (تأكسديا) بالتنفس أو بالتخمر، فهي كيموأورجانوتروفيه تحتوى على صبغة بنفسجية violet pigment تسمى violacein تنتج على بيئات مناسبة، لا تنتشر لكنها تذوب في الإيثانول ولا تذوب في الماء ولا الكلوروفورم. هذه الصبغة لها خصائص ضد ميكروبية antimicrobial characters. أفراد الجنس تعيش في التربة أو في المياه وأحياناً تسبب إصابات للثدييات أو فساد غذائي. النوع المثالي للجنس هو *C. violaceum*، وهو يسبب أحياناً إصابات قيحية pyogenic أو تسممية septicemic خطيرة في الثدييات بما فيها الإنسان.

Genus 3 : *Flavobacterium*

هذا الجنس مهم من الناحية الغذائية لما تنتجه أفراده من صبغات صفراء وبرتقالية تسبب تغير لون اللحم وكذلك اللبن ومنتجاته (مثل النوع *F. synxanthum*) وأيضاً تشترك فى فساد الأصداف والمحاريات والدواجن والبيض. أفراد الجنس سالبات لجرام لا تكون جراثيم داخلية endospores. كثيراً ما تتكون هذه الصبغات عند درجات الحرارة المنخفضة (١٥-٢٠ °م) وغالباً ما يعمل الضوء على تشجيع ظهور هذه الصبغات. درجات حرارة تحضين هذه البكتيريا تقع تحت ٣٠ °م وتعمل درجات الحرارة العالية على تثبيط النمو. النوع المثالى للجنس هو ميكروب *F. aquatile*.

Genus 4 : *Haemophilus*

خلاياه عصويات مكورة إلى عصويات ، دقيقة إلى متوسطة الحجم وتكون مفردة وفى بعض الأحيان تكون خيوط ، وقد تكون متغيرة الشكل pleomorphic. أفراد الجنس طفيليات إجبارية strict parasites تحتاج إلى عوامل نمو خاصة (بصفة خاصة إلى X and/or V factors) تستمدها من الدم. هوائيات إلى لاهوائيات إختياراً. قد تكون أو لا تكون ممرضة ، درجة الحرارة المثلى لها ٣٧ °م عادة. تتواجد فى مناطق مختلفة وفى إفرازات ، كما تتواجد فى الأغشية المخاطية للفقاريات.

يحتوى الجنس على ما يزيد عن ١٥ نوعاً ، النوع المثالى للجنس هو *Haemophilus influenzae* ، ولقد عزل هذا النوع فى بادىء الأمر من حالات وبائية عالمية للإنفلونزا ، ووقتها نسب إليه عن طريق الخطأ ، أنه هو المسئول المرضى عن الإنفلونزا. يوجد بصفة طبيعية فى البلعوم الأقصى nasopharynx للإنسان بأعداد قليلة ، وفى الحالات الإكلينيكية فى البصاق ، الجيوب الخارج أنفية paranasal sinuses ، الملتحمة conjunctive ،

السائل المخ شوكي cerebrospinal fluid ، الدم ، الصديد في حالات obstructive epiglottitis, otitis, osteomyelitis.

Genus 5 : *Pasteurella*

الخلايا بيضاوية أو عصوية الشكل ، تتواجد عادة مفردة وبدرجة أقل في أزواج أو سلاسل قصيرة. الصبغ ثنائي القطبية bipolar staining شائع في أفراد الجنس خاصة في حالة التحضيرات المأخوذة من أنسجة مصابة. وصبغها بصبغة جيمسا أو أزرق المثيلين. كيموأورجانوتروفيه ، تحصل على طاقتها بالتخمر ، طفيليات على الثدييات (بما فيها الإنسان) والطيور. يحتوى الجنس على حوالى خمسة أنواع منهم النوع *P. multocida* وهو المثالى للجنس ، وهو ممرض بدرجة عالية للجرذان mice والأرانب rabbits

Genus 6 : *Actinobacillus*

Genus 7 : *Cardiobacterium*

يحتوى الجنس على نوع واحد تقريبا هو *C. hominis* وإكتشف في أوائل السبعينات من القرن السابق ، وصيغ إسم الجنس إشتقاقا ونسبا للقلب أي بكتيريا القلب bacterium of the heart. ويوجد الميكروب في أنف وحلق الإنسان وأثبتت الدراسات أنه يؤدى إلى إلتهاب بطانة القلب endocarditis في الإنسان ، ولم تنجح الدراسات المعملية على حيوانات التجارب في إحداث المرضية بها.

Genus 8 : *Streptobacillus*

أفراده متطفلات إلى ممرضات للفئران والثدييات الأخرى. النوع المثالي للجنس هو *S. moniliformis* وعزل من سائل المفصل ومن الدم في الحالات التلقائية لإلتهاب المفاصل المتعدد polyarthritis في الفئران. عزل من مفصل العرقوب hock joint والكيس القصى sternal bursa في حالات

إلتهاب المفاصل فى الـديوك الرومـى Turkeys. يعتبـر الميكـروب S. moniliformis مستوطناً للبلعوم الأنفـى nasopharynx للفئـران البريـة وفئران التجارب. يسبب مـرض " حمـى عضـه الفـأر الستربتوباسـيلية streptobacillary rat bite fever " فى الإنسان وكـذلك streptobacillary arthritis of mice and turkeys وهـو مـرض إلتهـاب المفاصـل الإستربتوباسيللى فى الفئران والديوك الرومى.

Genus 9 : *Calymmatobacterium*

يوجد بالجنس نوع واحد وهو المثـالى ، وهـو *C. granulomatis* خلاياه عصوية متغيـرة الشـكل pleomorphic. عـادة يكـون كبسـول encapsulated غير متحـرك ، يسـبب granuloma inguinale ، other granulomatous lesions فى الإنسان.

6. Gram negative anaerobic straight curved and helical bacteria

يدخل تحت هذا القسم البكتيريا اللاهوائية ، السالبات لجـرام عائلـة واحدة هى Fam. Bacteroidaceae وستة "٦" أجناس غير محـددة النسـب genera of uncertain affliation. أما العائلة فتضم ثلاثة أجناس – هى : 1- *Bacteroides* 2- *Fusobacterium* , 3- *Leptotrichia*

أفراد العائلـة عصـويات ذات شـكل ثابـت موحـد أو متغيـرة pleomorphic ، سالبات لجرام ، غير متحركـة ، أو متحركـة بواسـطة فلاجـلات محيطيـة ، لا تكـون جـراثيم داخليـة endospores ، كيمولورجانوتروفيه ، لاهوائيات إجباراً ، عزلت من التجـاويف الطبيعيـة للإنسان والحيوانات الأخرى ومن الجهاز المعوى للحشرات حيث تتواجد فى

هذه الأماكن عزلت أيضاً من الإصابات infections بالإنسان والحيوانات الأخرى ، بعض الأنواع ممرضه.

Genus 1 : *Bacteroides*

هو الجنس المثالى للعائلة ، والنوع المثالى هو *B. fragilis* وعزل من محتويات المسالك المعوية السفلى للإنسان والحيوانات الأخرى حيث يتواجد كجزء من مكونات الفلورا الطبيعية السائدة predominant flora ، وعزل فى بعض الأحيان من الفم ومن عينات من إلتهابات الزائدة الدودية rectal ، blood ، heart valve infections ، peritonitis ، appendicitis abscesses ، pilonidal cysts ، ومن الجروح الجراحية والمناطق المصابة فى الجهاز البول تناسلى urogenital tract.

Genus 2 : *Fusobacterium*

أفراده تتواجد أيضاً في تجاويف الإنسان والحيوانات الأخرى. بعض الأنواع ممرضة وتتواجد فى إصابات قيحية purulent أو gangrenous مختلفة وفى إنسدادات infarcts العضو. النوع المثالى للجنس هو *F. nucleatum* وعزل من الفم ومن إصابات الجهاز التنفسى العلوى والتجويف البللورى pleural cavity وأحياناً من الجروح.

Genus 3 : *Leptotrichia*

تتواجد أفراده فى التجويف الفمى oral cavity للإنسان والنوع المثالى للجنس هو *L. buccalis*.

7. Dissimilatory sulfur or sulfate reducing bacteria

مجموعة من البكتيريا توضع فى عدة أجناس منها - *Desulfovibrio* *Butyrivibrio* - *Succinivibrio* - *Succinimonas* - *Lachnospira* - *Selenomonas*

وفيما يلي وصفاً مختصراً لهذه الأجناس :

Genus 1 : *Desulfovibrio*

من الأجناس الهامة زراعيا ، أفراده عصويات منحنية curved rods كيمواورجانوتروفيه تعيش فى التربة الزراعية بكثرة حيث تقـوم بـإختزال الكبريتات مباشرة إلى يد٢كب أثناء أكسدة المركبات العضوية للحصول على الطاقة. وهذه الخطوة تناظر إختزال النترات NO_3^- فـى دورة النيتـروجين. وتستيطع هذه البكتيريا أيضاً إختـزال الكبريـت والثيوكبريتـات ، وهـى ميكروبات لا هوائية حتماً. ويشاهد نشاطها فى الطين وفى قاع البرك وعلى الشواطىء ، ونظراً لأن ماء البحر يحتوى على نسبة عالية من الكبريتـات $SO_4^=$ ، فإن عملية إختزالها تكون مصحوبة بتحويل المادة العضوية إلى غير عضوية فى القاع. وتشاهد هذه الحالة فى البحر الأسود حيث يتحول قاعـة إلى طبقة من الطين الأسود لإحتوائه على كبريتيد الحديدوز والـذى تكـون نتيجة تفاعل يد٢كب الناتج عن نشاط هذه البكتيريا مع معدن الحديد مكوناً ح كب وأيدرات الحديدوز. وفى حالة حدوث ذلك فى مواسير الحديد ، ينتج عنه تآكل المواسير الحديدية ، مما يسبب خسارة إقتصادية كبيرة ، كما أن هـذه البكتيريا تلعب دوراً كبيراً فى تكوين الأراضى القلوية. والنـوع المثـالي للجنس هو ميكروب *D. desulfuricans*.

Genus 2 : *Butyrivibrio*

عصويات منحنية curved rods سالبات لجرام ، كيمواورجانوتروفيه تحصل على طاقتها بالتخمر مستخدمة الكربوهيـدرات بإعتبارهـا المـواد الأساسية التى تخمرها. تخمر الجلوكوز مـع إنتـاج أحمـاض البيوتريـك والفورميك وأحيانا لاكتيك ، يد٢ ، ك أ٢. النوع المثالى type species للجنس هو *B. fibrisolvens* ويتواجد فى كرش معظم إن لم يكن كـل المجتـرات Ruminants.

8. Gram negative anaerobic cocci

يدخل تحت هذا القسم من البكتيريا الكروية اللاهوائية السالبة لجـرام عائلة واحدة هى Family Veillonellaceae والتى تضـم بـدورها ثلاثـة أجناس هى :

Veillonella , *Acidaminococcus* , *Megasphaera*

أفراد العائلة عبارة عن خلايا كروية تتفاوت أقطارها من الصـغيرة (٠,٣-٠,٥ ميكرون) إلى الكبيرة (حوالى ٢,٥ ميكرون) ، تتواجد بطريقـة تميزها فى أزواج وكذلك خلايا مفردة ، وكتل وسلاسل ربما غيـر متصـلة تماماً ببعضها. وقد تتفلطح جوانب إتصال الخلايا ببعضها ، غير متحركة ، لا تمتلك فلاجلات ، سالبات لجرام ، كيموأورجانوتروفيه ، لهـا متطلبـات غذائية معقدة ، تنتج الغاز بوفرة غالباً ، قد يمكنها تخمير الكربوهيدرات فى ظروف معينة. قد لا تنتج حمض لاكتيك ، وإذا أنتج فلا يكون منتج رئيسى ، بعض أجناس العائلة تخمر اللاكتات مع إنتاج CO_2 , H_2 مـع عديـد مـن الأحماض الدهنية الطيارة قصيرة السلاسـل (المحتويـة علـى ٢-٦ ذرات كربون) ، لاهوائيات سالبة لإختبار السيتوكروم أوكسيديز ، سالبة للكتاليز ، ولو أن بعض السلالات يمكنها تحليل البيروكسيد بواسطة pseudocatalase (non-heme containing).

تعتبر طفيليات على الحيوانات المتجانسة حراريـا homothermic animals مثل الإنسان ، المجترات ، القوارض والخنازير - حيـث توجـد بصفة خاصة فى الجهاز الهضمى . الجنس المثالى type genus للعائلة هـو *Veillonella*.

جنس *Megasphaera* يضم كرويات كبيرة نسبيا ، أقطارهـا ٢,٠ ميكرون أو أكثر ، تتواجد فى أزواج pairs وأحياناً تتصل الأزواج لتكـون

سلاسل ، غير متحركة ، كيموهترونروفيه ، تنتج الغاز ، تخمر اللاكتات والجلوكوز مع إنتاج أحماض دهنية قصيرة السلسلة ، ك أ٢ وبعض الأيدروجين ، لها متطلبات غذائية معقدة ، لاهوائية إجباراً. النوع المثالى type species للجنس هو *Megasphaera, elsdenii* وكان يسمى سابقاً *Peptostreptococcus elsdenii*. يتواجد فى كرش الماشية والأغنام ، والأعور cecum للخنازير المغذاة فترة طويلة على النشا. منتجات هذا الميكروب من اللاكتات تشمل : خلات ، بروبيونات ، أحماض رباعية ذرات الكربون متفرعة أو مستقيمة السلسلة ، valerate ، كمية كبيرة من ك أ٢ ، كمية ضئيلة من حمض الكابرويك ، كميات صغيرة من H_2. وتختلف المنتجات من الجلوكوز عنها من اللاكتات من حيث أنه فى حالة الجلوكوز نجد بعض الفورمات تنتج ، الخلات أقل ، البروبيونات ، البيوترات والفاليرات تتكون – أما الكابروات (حوالى ٦٠ % أو أكثر) فهى تشكل أكثر المنتجات غزارة.

Gram negative chemolithotrophic bacteria

يدخل تحت هذا القسم مجموعة من البكتيريا الكروية والعصوية والحلزونية التي تعيش معيشة معدنية بحتة ، فتحصل على طاقتها من تفاعلات أكسدة وإختزال المركبات المعدنية وتأخذ الكربون من ثانى أكسيد الكربون الجوى ، وعلى ذلك تصنف بكتيريات هذا الجزء فى ثلاثة مجموعات حسب نوعية تفاعلات مصادر الطاقة :

I : Organisms oxidizing ammonia or nitrite.

II : Organisms metabolizing sulfur and sulfur compounds.

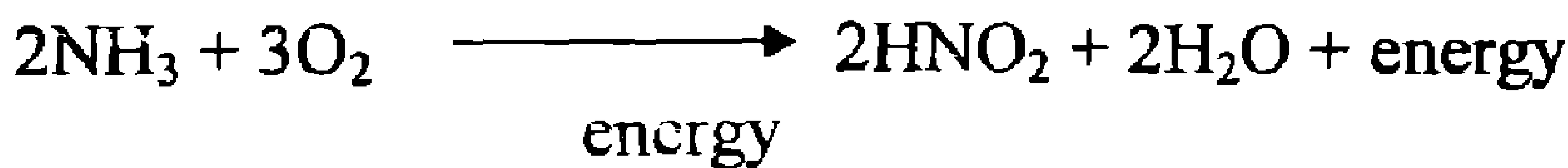
III : Organisms depositing iron and/or manganese oxides.

وفيما يلى نلقى الضوء على كل من المجموعات الثلاثة :

أولاً : البكتيريا المؤكسدة للأمونيا أو النيتريتات

وضعت أفراد هذه المجموعة في عائلة واحدة هي fam. Nitrobacteraceae ، وتتراوح أشكال الخلايا في هذه العائلة ما بين العصوى rod ، الأهليجي ellipsoidal ، الكروى spherical ، الحلزوني spirillar والخلايا المفصصة lobular. لا تكون جراثيم داخلية endospores. الفلاجلات تحت قطبية أو محيطية وغالباً غائبة. تحصل أفراد العائلة على طاقتها من أكسدة الأمونيا NH_3 (أربعة أجناس) أو من أكسدة النيتريت NO_2^- (ثلاثة أجناس) ، وتحصل على إحتياجاتها من الكربون من خلال تثبيت ك أ٢ الجوى. ويوجد قله فقط من سلالات النوع *Nitrobacter winogradskyi* يمكنها أن تعيش كيموأورجانوتروفيا إختياراً facultatively chemoorganotrophic. ليس من بين أفراد العائلة من يعيش طفيلياً. توجد عادة في التربة ، المياه العذبة ، ومياه البحار. جميع أفراد العائلة هوائيات إجباراً ، وليس من بينها ما يتطلب عوامل نمو عضوية. الخلايا غنية بالسيتوكرومات ولم يثبت وجود أية صبغات أخرى بها. الجنس المثالي type genus للعائلة هو *Nitrobacter*.

تحتوى العائلة على سبعة أجناس أربعة منها تؤكسد الأمونيا ن يد٣ إلى نيتريت ن أ٢⁻ وثلاثة تؤكسد النيتريت ن أ٢⁻ إلى نترات ن أ٣⁻. الأجناس التي تؤكسد الأمونيا ن يد٣ إلى نيتريت ن أ٢⁻ ، أي تجرى التفاعلات التالية ، والتي تسمى nitrosification :



$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + energy$$



$$2CO_2 + 2H_2O \xrightarrow{energy} 2(CH_2O) + 2O_2$$



$$2NH_3 + 2CO2 + O2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2(CH_2O) + 79.000\ Cal$$

هى :

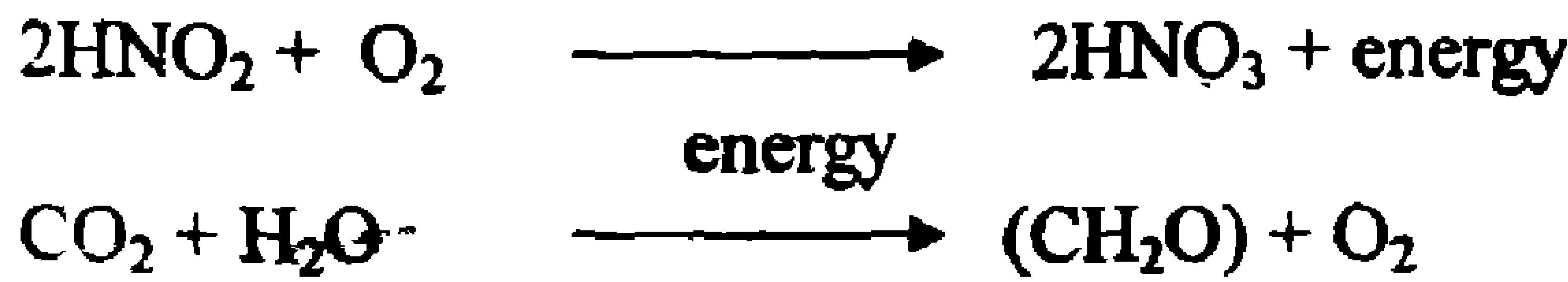
1) *Nitrosomonas*, type species is *N. europaea*

2) *Nitrosospira*, type species is *N. briensis*

3) *Nitrosococcus*, type species is *N. nitrosus*

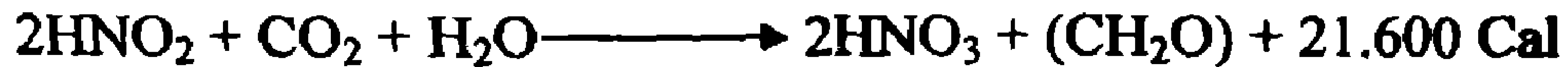
4) *Nitrosolobus*, type species is *N. multiformis*

أما الأجناس التي تؤكسد النيتريت ن أ٢- إلــى نتــرات ن أ٣- ، أى تجرى التفاعلات التالية ، والتي تسمى nitrification :



$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + energy$$

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{energy} (CH_2O) + O_2$$



$$2HNO_2 + CO_2 + H_2O \longrightarrow 2HNO_3 + (CH_2O) + 21.600\ Cal$$

هى :

1) *Nitrobacter*, type species is *N. winogradskyi*

2) *Nitrospina*, type species is *N. gracilis*

3) *Nitrococcus*, type species is *N. mobilis*

وتسمى مجموعة التفاعلات كلها التى تجريها أفراد العائلة بأجناسها : مؤكسدات الأمونيا ومؤكسدات النيتريت ، بتفاعلات التأزت nitrification أو النترتــه. وتســمى هــذه البكتيريــا جميعــا " البكتيريــا المؤزتــه "Nitrifying bacteria. وتنتشر هذه الميكروبات فى التربة الزراعية علــى نطاق واسع ، وهى مهمة جداً لخصوبة التربة حيث تقــوم بعمليــة أكســدة النيتروجين النشادرى الناتج من تحلل المادة العضوية بالتربة ، وبذلك تمنــع فقده على صورة غاز ، علاوة على أن النترات ، وهى الناتج النهائى لهــذه التفاعلات تعتبر من أحسن الصور للإستفادة بها عن طريق النباتات. ومــن البديهى أن هذه الميكروبات أثناء نشاطها تحصل علــى مــا يلزمهــا مــن

نيتروجين لبناء الخلايا الجديدة من أيون الأمونيوم (فى حالة الأربعة أجناس المؤكسدة للنشادر) أو من النيتريت (فى حالة الثلاثة أجناس الأخرى). وتجدر الإشارة إلى أن هناك عوامل كثيرة تؤثر فى توزيع وإنتشار ونشـــاط هــذه البكتيريا فى التربة. ومن أهم هذه العوامل رقم الــpH (حيث يناسبها فقــط pH ٨,٠-٦,٥) ، الرطوبة الأرضية، إضافة المخلفات العضــوية للتربــة ، إضافة أملاح أمونيوم للتربة ودرجة التهوية.

ثانياً : البكتيريا الممثلة للكبريت ومركباته

أفراد هذه المجموعة وصفت فى ستة أجناس بيانها كالتالى :

1) *Thiobacillus*, type species is *T. thioparus*

2) *Sulfolobus*, type species is *S. acidocaldarium*

3) *Thiobacterium*, type species is *T. bovista*

4) *Macromonas*, type species is *M. mobilis*

5) *Thiovulum*, type species is *T. majus*

6) *Thiospira*, type species is *T. winogradskyi*

جميعها لها القدرة على الحصول على ما يلزمها من طاقة من خلال عمليات أكسدة المركبات الكبريتية غير العضوية المختزلة مثل : sulfides, elemental sulfur, sulfites, thiosulfate, polythionates والناتج النهائى للأكسدة هو الكبريتات sulfate. وبعضها يرسب حبيبات الكبريت العنصرى داخل خلاياها. ويعتبر جنس *Thiobacillus* من الأجناس الهامــة زراعيــاً وتتواجد أفراده فى التربة ، ومنه النوع *T. ferroxidans* الذى يمكنه إستغلال مركبات الحديدوز كمستقبلات للإلكترون كما أن النــوع *T. denitrificans* (على عكس جميع أفراد الجنس التي تعتبر هوائيات إجباراً) ينمو لاهوائياً فى وجود النترات التي تقوم بدور مستقبل للإلكترون.

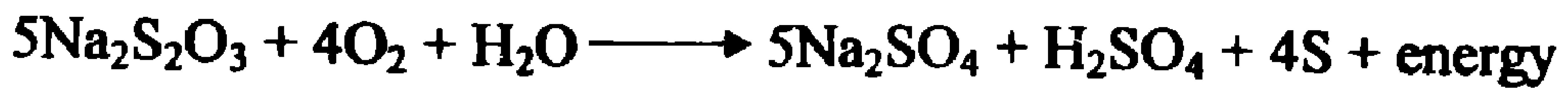
ويتميز جنس *Thiobacillus* عموما بأنه لا يرسب حبيبات الكبريت داخل خلاياه. والأمثلة التالية توضح التفاعلات التي تقوم بها بعض أفراده

T. thiooxidans, *T. novellus*

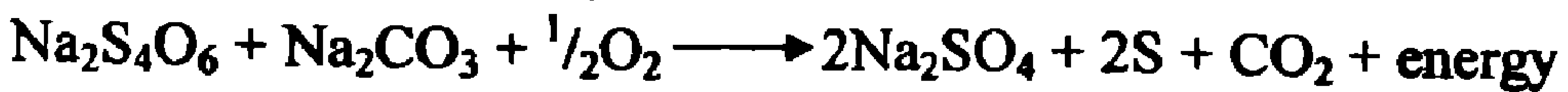


$$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \longrightarrow 2NaHSO_4 + energy$$

T. thioparus



$$5Na_2S_2O_3 + 4O_2 + H_2O \longrightarrow 5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4S + energy$$



$$Na_2S_4O_6 + Na_2CO_3 + {}^1/_2O_2 \longrightarrow 2Na_2SO_4 + 2S + CO_2 + energy$$

T. denitrificans



$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \longrightarrow K_2SO_4 + 4KHSO_4 + 3N_2 + energy$$

ثالثا : البكتيريا مرسبة أكاسيد الحديد أو المنجنيز

جمعت هذه البكتيريا التى تؤكسد الحديد أو المنجنيز وترسبها على صورة أكاسيد ، فى عائلة واحدة سميت Siderocapsaceae family تضم أربعة أجناس هى :

1) *Siderocapsa*, type species is *S. treubii*

2) *Naumanniella*, type species is *N. neustonica*

3) *Ochrobium*, type species is *O. tectum*

4) *Siderococcus*, type species is *S. limoniticus*

وتوجد هذه الميكروبات فى المياه الطبيعية ذات الـpH المائل للقلوية والغنية بالحديد أو المنجنيز – فى تجمعات clusters من عدد قليل حتى ٦٠ خلية ومغلفة بما يشبه القشرة torus من أكاسيد الحديد ، ولهذا يصعب عزلها

فى صورة مزارع نقية. تحصل على طاقتها من أكسدة الحديد والمنجنيز إلـــى أكاسيد الحديديك أو المنجنيز خارج خلاياها وليست داخلها. ويعــزى وجــود طبقة هلامية ذات لون أصفر محمر على الطين أو الحجارة أو علـــى أســطح المياه وصول النباتات المائية ، إلى نشاط هذه البكتيريا وترسيبها لأيدروكســيد الحديديك. ومن أحسن الأمثلة لها هو *Siderocapsa treubii* وهـــى بكتيريـــا مائية تنشط أينما كانت المياه الغنية بالحديد وتقوم بترسيب أيدروكسيد الحديديك على صورة قشرة تحيط بالتجمعات البكتيرية يبدو مظهرها هلامى لزج فـــى صورة كتل أو سحابات على أسطح المياه وبالقرب من الشواطىء والأحجار ، وربما يعزى إليها قفل أو سد مواسير المياه وما ينجم عن ذلك مـــن خســـائر إقتصادية ، وهى فى ذلك تماثل أفراد جنس *Gallionella, Leptothrix*.

9 . Rickettsias and Chalamydias

بكتيريا صغيرة غير متحركة سالبة لجرام ، تنمـــو داخـــل عوائلهـــا الإيوكاريوتية فقط ، وعلى الرغم من أن أحجامها فى حالات كثيرة تقـــارب بعض الفيروسات الكبيرة والأخيرة متطفلة إجباريـــاً أيضـــاً فإنهـــا تصـــنف كبكتيريا على أساس أنها تشبه البكتيريا القياسية فى وجود كـــلا الحمضـــين النوويين بها (RNA ، DNA) ، وتكاثرها بالإنقسام الثنائى ، وإحتواء جدرها الخلوية على حمض ميوراميك (أو حتى أحد أشكال الببتيدوجليكان كما فـــى الكلاميدات) ووجود الريبوسومات ، وإحتواءها على إنزيمات نشـــطة فـــى التمثيل الغذائى ، وتثبيط نموها بالعقـــاقير المضـــادة للبكتيريـــا ، وتخليقهـــا للــ ATP كمصدر للطاقة علماً بأن الكلاميدات لا تخلق الــ ATP .

تختلف الرايكتسيات عن الكلاميدات فى أن الأولى تمتلك نظام تمثيل غذائى معقد كثيراً يسمح لها بتخليق الــــ ATP وتفتقـــر إلـــى وجـــود دورة تطورية معقدة . من أمثلة الرايكتسيات جنس *Rickettsia* الذى يحدث الحمى

المعروفة باسم fever spotted . الكلاميدات متطفلات إجبارية تختلف عن الرايكتسيات في عدم مقدرتها على تصنيع الـATP وإعتمادها الكامل على خلايا العائل في الحصول على هذا المركب ولذلك كثيراً ما يطلق عليها energy parasites وكذلك إمتلاكها لدورة تطورية مميزة ، من أمثلة الكلاميديات جنس *Chlamydia* الذى يسبب الـTrachoma .

10. Anoxgenic phototrophic bacteria :

يضم هذا الجزء Order Rhodospirillales ويتبعها جميع البكتيريا الممثلة للضوء. تصنف الرتبة إلى تحت رتبة بثلاثة عائلات ، ثم عقب إكتشاف جنساً جديداً من البكتيرياالخضراء المتحركة بحركة إنزلاقية gliding movement وهو جنس *Chloroflexus* أنشأ عائلة سميت Chloroflexaceae لتضم هذا الجنس السابق وما يستحدث على شاكلته والذى تتميز أفراده : بمرونة الخلايا ، الحركة الإنزلاقية. حويصلات كلوروبيوم تحتوى على كلوروفيل c , a. تفضيل الحياة الفوتوأورجانوتروفيه. المقدرة على النمو هوائياً فى الظلام.

وعلى ذلك تصنف الرتبة إلى أربعة عائلات كما يلى :

1: Suborder Rhodospirillineae

(% 73 – 61 GC) fam. Rhodospirillaceae

(% 67 – 46 GC) fam. Chromatiaceae

2: Suborder Chlorobiineae

(% 58 – 48 GC) fam. Chlorobiaceae

(% 55 – 53 GC) fam. Chloroflexaceae

ويعتمد تصنيف الرتبة إلى تحت رتبة وعائلات على مجموعة من الخصائص أهمها ما يلى :

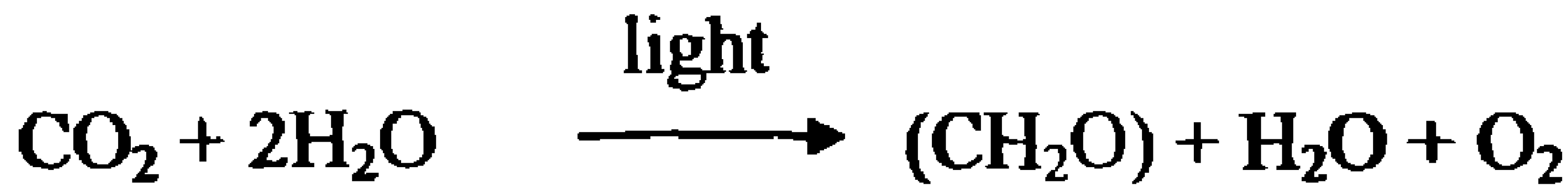
- Photo synthesis carried out under anaerobic conditions.

- Color of culture.
- Presence of bacteriochlorophyll a, b, c or d.
- Nature of electron donor (organic or sulfur-containing).
- Oxidation of accumulated sulfur to sulfate.
- Elemental sulfur as electron donor.
- Accumulation of elemental sulfur.

أفراد الرتبة جميعها بكتيريا ممثلة للضوء وغالباً تعيش فى ظـــروف مائية ، ويتراوح شكل الخلايـــا بـــين المســـتدير ، العصـــوى ، الضـــمى ، الحلزونى. تتكاثر غالباً بالإنقسام الثنائى البسيط ، بعـــض الأنـــواع يتكـــاثر بالتبرعم ، سالبة لجرام. الخلايا ملونة لوجود خليط من صبغات الكلوروفيل البكتيرى والكاروتينات تختلف من اللون الأرجوانى البنفسجى ، الأحمـــر ، البنى ، البرتقالى ، والأخضر. يمكن للبعض تخزين حبيبات الكبريت داخـــل الخلايا ، فالبعض يرسبه بداخل الخلايا والبعض الآخر يرسبه خارج الخلايا، فى حين أن هناك من لا يستطيع إستخدام مركبات الكبريت إطلاقاً.

تختلف عملية التمثيل الضوئى التى يقوم بها أفراد هذه الرتبة عن تلك التى يقوم بها الطحالب والنباتات الخضراء فى أنها تحدث هنا فى ظـــروف لاهوائية ، ولا ينطلق عنها الأوكسجين كناتج نهائى ، وكذلك فـــإن معطـــى الإلكترون يكون عبارة عن مركبات مختزلة مثل مركبات الكبريـــت القابلـــة للأكسدة ، أو الأيدروجين الجزيئى أو مركبات عضوية على عكس النباتـــات الخضراء والطحالب حيث يكون معطى الإلكترون هو الماء على النحو التالى

- Green plant photosynthesis :



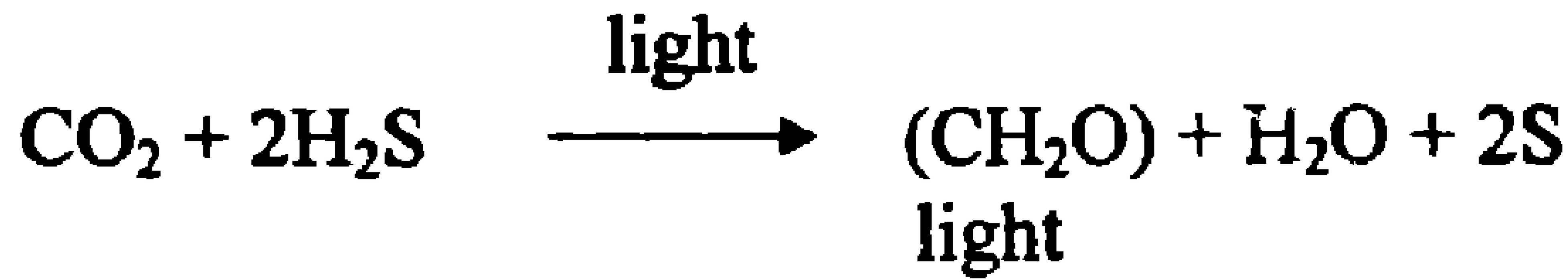
$$CO_2 + 2H_2O \xrightarrow{\text{light}} (CH_2O) + H_2O + O_2$$

- Bacterial photosynthesis :

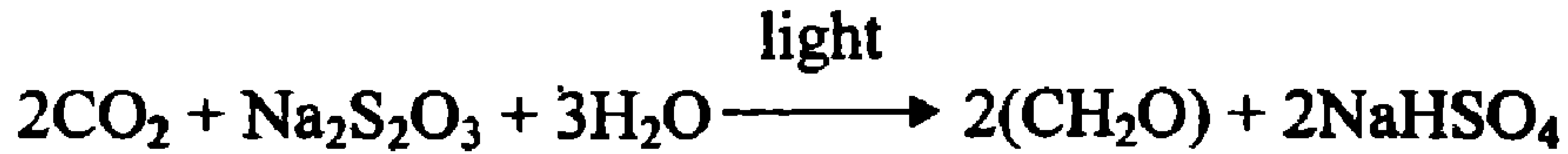


$$CO_2 + 2H_2A \xrightarrow{light} (CH_2O) + H_2O + 2A$$

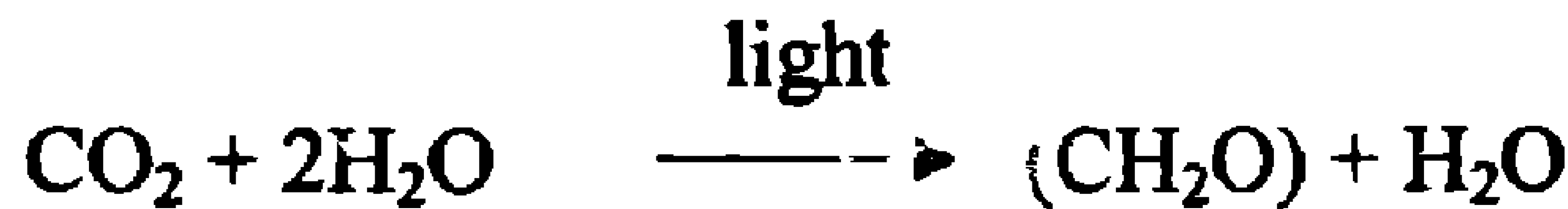
In reaction 2, H_2A serves as hydrogen donor to NADP at first, and NADPH reduces the CO_2 to sugar CH_2O. Hence, A may be sulfur or an organic residue, depending on species.



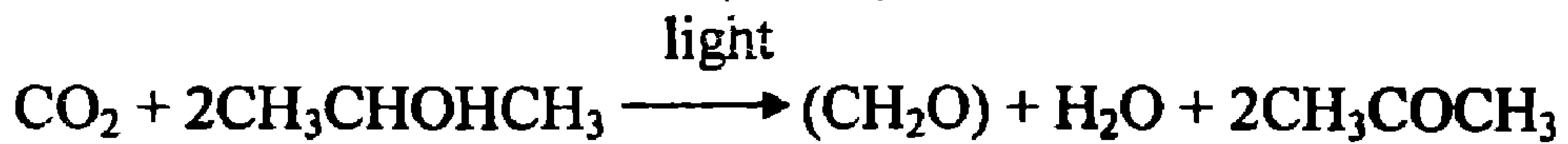
$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow{light} (CH_2O) + H_2O + 2S$$



$$2CO_2 + Na_2S_2O_3 + 3H_2O \xrightarrow{light} 2(CH_2O) + 2NaHSO_4$$



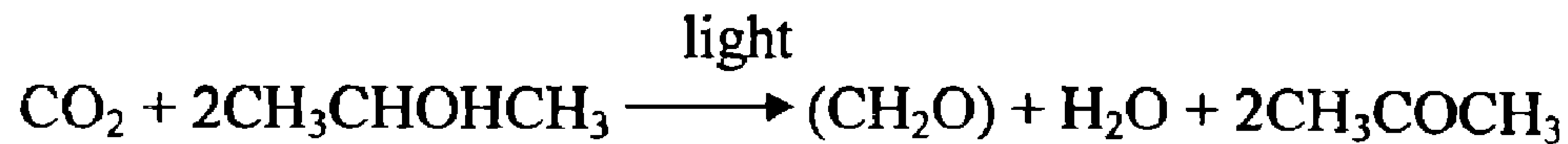
$$CO_2 + 2H_2O \xrightarrow{light} (CH_2O) + H_2O$$



$$CO_2 + 2CH_3CHOHCH_3 \xrightarrow{light} (CH_2O) + H_2O + 2CH_3COCH_3$$

Family 1 : Rhodospirillaceae

تضم مجموعة البكتيريا الأرجوانية غيـر الكبريتيـة non-sulfur purple bacteria الممثلة للضـوء ، وكانـت تسـمى Athiorhodaceae. أفرادها غالبا فوتوأورجانوتروفيه تستخدم المركبـات العضـوية أو حتـى الأيدروجين الجزيئى كمعطي للإلكترون (أى كمختزلات بناء ضـوئي) ولا يمكنها إستعمال مركبات الكبريت بل أن الـ H_2S يعتبر سام لها ، والمعادلـة التالية مثالا على نشاطها :



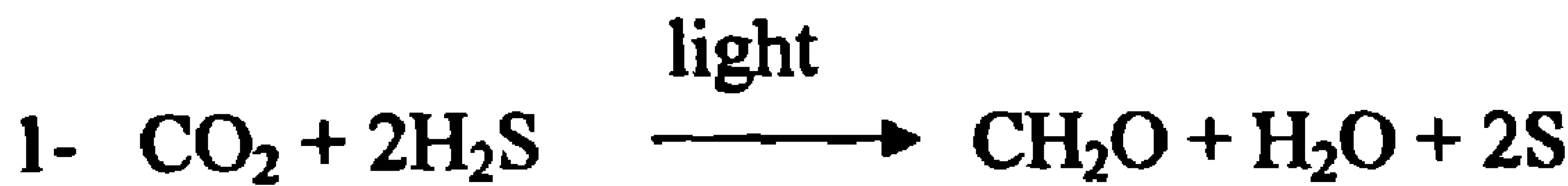
$$CO_2 + 2CH_3CHOHCH_3 \xrightarrow{light} (CH_2O) + H_2O + 2CH_3COCH_3$$

وتحتوى الخلايا على بكتيريوكلوروفيل a , b. وتصنف العائلة إلـى ثلاثة أجناس هى :

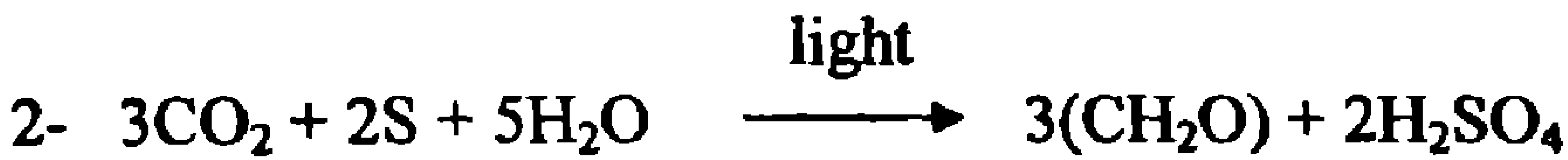
Rhodomicrobium , *Rhodopseudomonas* , *Rhodospirillum*

Family 2 : Chromatiaceae

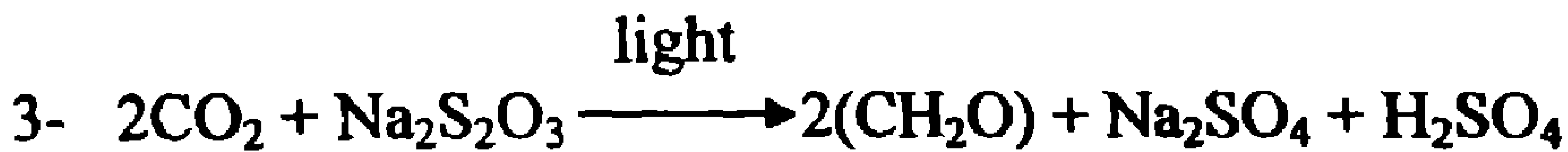
تسمى أفراد هذه العائلة بالبكتيريا الأرجوانية الكبريتية purple sulfur bacteria وكانت تسمى بالـ Thiorhodaceae . أفرادها تستطيع النمو فى وجود الكبريتيدات أو الكبريت كمعطى للإلكترون أى أنها تستخدم عديداً من المركبات غير العضوية المختلفة المحتوية على الكبريت ، كما يمكنها الإفادة من الأيدروجين كمختزلات فى عمليات البناء الضوئىphotosynthetic reductants. لها القدرة على تكوين حبيبات كبريت عنصرى داخل أو خارج خلاياها إذا أمدت بالكبريتيدات sulfides ، كما يمكنها علاوة على ذلك أكسدة الكبريت المتراكم من الخطوة السابقة إلى كبريتات SO_4^{2-}. وأى معادلة من المعادلات التالية يمكن أن تعبر عن عملية البناء الضوئى بوساطة بكتيريا الكبريت الأرجوانية على حسب المختزل reductant المتوافر للعملية ، ويمثل CH_2O أساس الكربوهيدرات المخلقة :



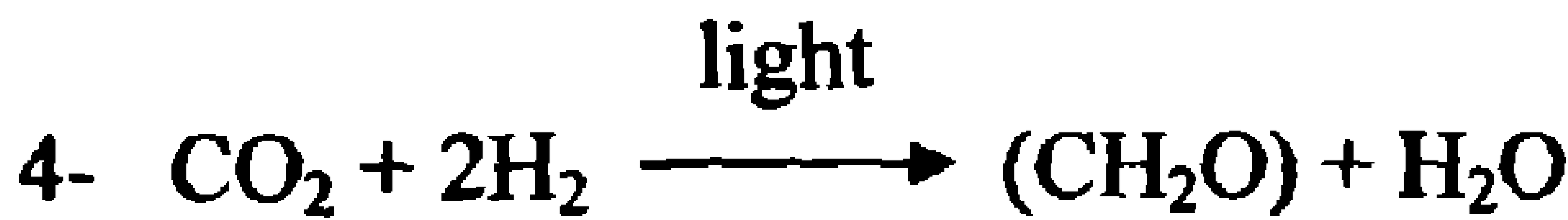
$$1-\quad CO_2 + 2H_2S \xrightarrow{light} CH_2O + H_2O + 2S$$



$$2-\quad 3CO_2 + 2S + 5H_2O \xrightarrow{light} 3(CH_2O) + 2H_2SO_4$$



$$3-\quad 2CO_2 + Na_2S_2O_3 \xrightarrow{light} 2(CH_2O) + Na_2SO_4 + H_2SO_4$$



$$4-\quad CO_2 + 2H_2 \xrightarrow{light} (CH_2O) + H_2O$$

معظم أفراد العائلة لاهوائيات حتماً. وتصنف العائلة إلى عشرة أجناس genera : *Chromatium*, *Thiocystis*, *Thiosarcina*, *Thiospirillum*, *Thiocapsa*, *Lamprocystis*, *Thiodictyon*, *Thiopedia*, *Amoebobacter*, *Ectothiorhodospira* لها القدرة على تخزين حبيبات الكبريت الناتج من أكسدة الكبريتيد داخل خلاياها intermediarily ،

intracellularly بإستثناء جنس واحـــد هـــو *Ectothiorhodospira* والـــذى يرسب حبيبات الكبريت العنصرى خارج خلاياه extracellularly

i.e. The key characteristics to the genera of family Chromatiaceae are Position of stored sulfur , Presence of gas vacuoles , Motility , Type of flagellation and Cell shape and arrangement.

بصفة عامة ، فإن الكبريتات تعتبر الناتج النهائى لأكســدة مركبــات الكبريت بقصد الحصول على الطاقة وبناء الخلايا الجديدة. أفــراد العائلـــة لاهوائيات إجباراً ، ممثلات للضـــوء إجبـــاراً obligate phototrophic ولا يمكن أن تنمو فى الظلام. البعض محب للملوحة ، غالباً فوتوليثوتروفيـــه ، ولو أنها تمتلك المقدرة على المعيشة ميكســوتروفيا mixotrophic. يوجـد بالخلايا بكتيريوكلوروفيل a ,b. تتواجد أفراد العائلة فى المناطق المائية مثل المصارف ، المستنقعات ، والبرك خاصة المحتوية على تركيزات عالية من الكبريتيدات ، وكذلك فى الأراضى التى تحتوى على طين أسود.

Family 3 : Chlorobiaceae

تسمى أفراد هذه العائلة بالبكتيريا الكبريتية الخضراء Green sulfur bacteria وكانــت تســمى ســابقاً Chlorobacteriaceae . تتميــز بوجــود بكتيريوكلوروفيل c , d وتستخدم هذه الكائنات نفس المختزلات البناء ضـــوئية photosynthetic reductants التى تستخدمها بكتيريا الكبريــت الأرجوانيـــة. وعلى ذلك يمكنها عمل ذات التفاعلات السابق عرضها. وتســتطيع ترســيب حبيبات الكبريت العنصرى خارج خلاياها عند إنمائها فى وسط يحتوى علـــى الكبريتيد. جميعها لاهوائيات حتماً. يمكن للبعض منها إســتخدام الهيــدروجين الجزيئى كمعطى للإلكترون بشرط وجود الكبريتيد ، وبذلك فهى تقوم بـــدور

عظيم فى أكسدة الكبريت المختزل مثل H_2S إلـى حمـض كبريتيـك أثنـاء حصولها على الطاقة ، ونتيجة للأكسدة يتكون أيون الأيدروجين ، وعلى ذلـك فإضافة الكبريت تعتبر من الطرق الناجحة في إصلاح الأرض القلوية. تصنف هذه العائلة إلي خمسـة أجنـاس هـي: *Chlorobium, Prosthecochloris, Chloropseudomonas, Pelodictyon, Clathrochloris*

أفراد العائلة ترسب الكبريت خارج خلاياها بإستثناء جنس واحد فقط من الخمسة وهو Clathrochloris هو الذي تمتلك بعض أفراده المقدرة علي ترسيب حبيبات الكبريت داخل خلايا intracelliularly

i.e. The key characteristics to the genera of family chlorobiaceae are Association with other microbes , Presence of gas vacuoles , Cell shape and arrangement , Mobility.

أفراد العائلة ممثلات للضـوء إجبـاراً obligately phototrophic بمعنى أنها لا تقوى على الأيض التنفسـي respiratory metabolism فـى الظلام (أى لا يمكن لها النمو فى الظلام) . بعض الأفراد يمكنها تمثيل مواداً عضوية بسيطة فى عملية النمو الفوتوتروفى بشرط وجود مركب كبريتـى مختزل reduced كمصدر للكبريت.ذلك نظراً لعجز هـذه البكتيريـا عـن الإختزال التمثيلى للبكتيريات assimilatory sulfate reduction . المركبات العضوية التى يمكن أن تستعملها هذه الأنواع البكتيريـة تشـمل الخـلات ، بروبيونات ، بيروفات ، ولاكتات. ومن ثم يطلق على هذه الأنـواع بأنهـا ميكسوتروفيه بفعالية potentially mixotrophic

Family 4 : Chlorcflexaceae

أفرادها تسمى البكتيرياالخضراء غير البكتيرتية green non-sulfur bacteria ، وهى خيطيـة الشـكل ، تتحـرك حركـة إنزلاقيـة gliding

movement وتسمى لذلك البكتيريـــا الخضـــراء المنزلقـــة gliding green bacteria تمييزاً لها عن البكتيريا المنزلقة ويتبع لهـــذه العائلـــة الجنســـين : *Chloroflexus* , *Oscillochloris* ، وتعيش أفرادها فى الأوساط المائيـــة ، وبصفة خاصة كعوالق مائية في البحيرات planktonically in lakes. يمكن لأفراد العائلة أن تنمو هتروتروفيا فى الظلام تحت ظروف هوائية ، كما تنمو فوتوتروفيا phototrophically على مجموعة كبيرة متنوعة من السكريات ، الأحمـــاض الأمينيـــة والأحمـــاض العضـــوية أو فوتوأوتوتروفيـــا photoautotrophically بإستخدام H_2S أو H_2 مع CO_2 .

II. Oxygenic phototrophic bacteria

أما بخصوص البكتيريا الأوكســيجينية oxygenic photobacteria (oxyphotobacteria) والتى تسمى بالسيانوبكتيريا Cyanobacteria فتصنف فى رتبتين هما :

1- Order Cyanobacteriales.

2- Order Prochlorales.

وتحتل هاتين الرتبتين مكانا وسطاً فيما بين البكتيريا الفوتوتروفيه من ناحية والطحالب الإيوكاريوتية من ناحية أخرى ، وربما كانت هـــذه حلقـــة تطورية evolutionary link. الصبغة الأساسية فى نظام البناء الضوئى فى أفراد هاتين الرتبتين هى كلوروفيـــل a ، ولـــو أن الـــــprochlorophytes (Prochlorales) تحتوى أيضاً على كلوروفيل b ، الأمر الذى يجعلها أكثـــر شبهاً وقرابة بالطحالب الخضراء.

وعلى العكس ، فإن بعض الســيانوبكتيريا cyanobacteria يمكنهـــا القيام بعملية البناء الضوئى اللاأوكسيجينية anoxygenic photosynthesis كمصـــدر للطاقـــة وهـــى المميـــزة للبكتيريـــا الضـــوئية اللاأوكســـيجينية

anoxyphotobacteria. وعلى ذلك يمكن إفتراض نوعاً من العلاقة الفيلوجينية phylogenetic relationship بين الكائنات الممثلة للطاقة الضوئية حيث تحتل البكتيريا الضوئية الأوكسيجينية oxyphotobacteria مكاناً وسطاً بين البكتيريا الضوئية اللاأوكسيجينية anoxyphotobacteria من جهة والطحالب من جهة أخرى. وتضم أيضاً السيانوبكتيريا والتي تسمى أيضاً بالطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae عدداً كبيراً من الأجناس من أشهرها جنس *Anabeana* وجنس *Nostoc* حيث يلعب كل منهما دوراً أساسياً في بناء سلاسل الغذاء المائية بجانب تثبيت نيتروجين الهواء الجوى . هذا علاوة على جنس *Spirulina* الذى يستخدم كغذاء آدمى.

12 . Aerobic chemolithotrophic bacteria and organisms

بكتيريا تنمو فقط فى وجودِ الأكسجين ، سالبة لجرام ، تعيش معيشة معدنية بحتة . تحصل على الطاقة لتثبيت CO_2 من المركبات الغير عضوية (من خلال أكسدة الأمونيا والنيتريت ومركبات الكبريت المختزلة أو الحديدوز) . تشمل هذه البكتيريا عدة مجاميع هى البكتيريا التى تقوم بعملية التأزت nitrifying bacteria المؤكسدة للنيتريت والأمونيا وهى تلعب دوراً هاماً فى دورة النيتروجين وخصوبة التربة . ومنها بكتيريا الكبريت الغير ملونة مثل جنس *Thiobacillus* الذى يلعب دوراً هاما فى دورة الكبريت . وبكتيريا الهيدروجين وتتميز باستخدام الهيدروجين الجزيئى كمعطى للإلكترون وCO_2 كمصدر للكربون وقد جمعت هذه الأفراد فى جنس وحيد هو *Hydrogenbater* والبكتيريا المرسبة أو المؤكسدة للحديد والمنجنيز وهى تستطيع ترسيب أكاسيد الحديد والمنجنيز خارج خلاياها وأحياناً داخلها . كذلك البكتيريا المغناطسية التى تتحرك فى إتجاه المجال المغناطيسى المحلى، ولها دوراً هاماً فى ترسيب الحديد .

13. Budding and/or appendaged bacteria

يضم هذا الجزء سبعة عشرة جنسا جميعها سالبة لجرام ، كيمواورجانوتروفيه ، بعضها ذات سويقات stalks (stalked) وهى عبارة عن بروزات أو زوائد appendages أو prosthecae ومفردها زائدة prostheca. وهى بروزات شبه صلبة ممتدة من الخلية البكتيرية. ويكون قطرها دائماً أقل من قطر الخلية الناضجة وتكون البروزات محاطة بالجدار الخلوى – وهذه تشمل السويقات الخلوية cellular stalks فى caulobacters وكذلك هيفات hyphae of hyphomicrobia ، لكنها لا تشمل السويقات المفرزة فى حالة جنس : *Nevskia* , *Gallionella*

بعض أفراد هذه المجموعة من البكتيريا تتكاثر بالتبرعم ، والبعض الآخر يتكاثر بالإنقسام الثنائى البسيط أو بهما معاً. والبراعم buds الناتجة قد تكون جالسة sessile (بدون سويقة) أو تتكون فى نهاية خيوط إسطوانية تتكون من طرف الخلايا الناضجة أو من الخيوط التى قد تصل الخلايا ببعضها. وفى بعض الأنواع تتكون حوامل أو مواسك holdfasts لتثبيت تجمعات الخلايا بالأسطح النامية عليها ، وأحياناً تتجمع الخلايا لتكون خيوط قد تتفرع تفرعاً كاذباً. معظم هذه البكتيريا كيمواورجانوتروفيه والبعض كيموليثوتروفى.

تعيش أفرادها فى الأوساط المائية على هيئة تجمعات عائمة من الخلايا، تتصل كل خلية بالأخرى بواسطة خيط أنبوبى ، كذلك تنتشر فى التربة حيث يلعب الكثير منها دوراً هاماً فى أكسدة العناصر مثل الحديد والمنجنيز. ففى جنس Gallionella نجد النوع G. ferruginea منتشر على نطاق واسع فى المياه الغنية بالحديد وكذلك فى التربة ويسبب مشاكل كثيرة فى مواسير المياه حيث يؤدى إلى تراكم أيدروكسيد الحديديك الهلامى القوام، والأخير يسبب قفل الأنابيب والمواسير الموصلة للمياه علاوة على تغيير لون المياه إلى اللون الأحمر. ومن المحتمل أن هذا الميكروب يعيش معيشة كيموليثوتروفيه

chemolithotrophic حيث يؤكسد الحديدوز إلى حديديك وفى نفس الوقت يمثل كميات كبيرة من ك أ٢. ينمو فى بيئات صناعية غير عضوية وفى المياه الفقيرة غذائيا oligotrophic waters فى الطبيعة. ويرسب الحديد على صورة أيدروكسيد الحديديك فى مثل هذه الظروف إذ يصل نسبته أحيانا إلى ٩٥ % من وزن النمو الميكروبى على أساس الوزن الجاف للكتلة الخلوية.

كما أن النوع *Pedomicrobium ferrugineum* يتواجد بكثرة فى التربة ويؤكسد الحديدوز مرسبا إياه على صورة أيدروكسيد حديديك على الخلايا الأمية mother cells فى بداية الأمر ، وفيما بعد يتم الترسيب على بعض الهيفات hyphae الناشئة عن الزوائد prosthecae. ولا يمكن لهذا النوع أن يؤكسد المنجنيز. أما الميكروب *Pedomicrobium manganicum* فيؤكسد المنجنيز ويرسبه فى بادىء الأمر على أسطح الخلايا الأمية. ويتواجد هذا النوع بكثرة فى الطبيعة ، ولقد عزل فى أول الأمر من عينات تربة من منطقة لينجراد من أماكن كانت تحتوى على رواسب منجنيزية. وهذا النوع البكتيرى يعتبر كيموهتروتروفى chemoheterotrophic. أما جنس *Pasteuria* فهو من البكتيريا التى ليست لها بروزات non-prosthecate لكنها تتكاثر بالتبرعم Budding. ولقد إكتشف بيترهيرش عام ١٩٧٢ النوع *Pasteuria ramosa* حيث عزله من برغوث الماء Daphnia pulex وهو من رتبة Cladocera التى تتبع subclass Branchiopoda ، تبع القشريات قسم مفصليات الأرجل. كما عزله من Daphnia magna. والنوع البكتيرى المشار له يعد بلا شك ممرضا لبرغوث الماء.

أما الجنس *Hyphomicrobium* فيتميز بمجموعة خصائص ، منها أن الخلايا مزودة ببروزات prosthecae لها دور فى عملية التناسل ، الخلايا تتناسل بالتبرعم. ومن أكثر البكتيريا التى تتكاثر بالتبرعم دراسة وإهتماما هما

الجنسان : *Rhodomicrobium, Hyphomicrobium*. أفـــراد الجـــنس الأول منهما تعتبر هتروتروفيه (والجنس يعد أحد السبعة عشر جنساً لهـــذا الجـــزء part) ،أمـــا أفـــراد جـــنس *Rhodomicrobium* فتعتبـــر فوتوتروفيـــه phototrophic. وفيما يلى نلخص مفتاح تصنيف السبعة عشر جنســاً التـــى يشملها هذا الجزء :

أولاً : بكتيريا تكون نواتج الإنقسام الثنائى فيها غير متساوية :

أ – بكتيريا ذات بروزات prosthecate bacteria

١ – البروزات prosthecae لها وظيفة تناسلية ، تكوين الخلايا الجديدة يـــتم بعملية تبرعم – تشمل الأجناس *التالية* *Hyphomicrobium , Hyphomonas Pedomicrobium*

٢ – البروزات ليس لها وظيفة تناسلية وتشمل الأجناس التالية :

Asticcacaulis, Caulobacter, Prosthecomicrobium, Ancalomicrobium

٣ – قد يكون للبروزات وظيفة تناسلية وهذه تشمل الجنس Thiodendron

ب : بكتيريا ليس لها بروزات Non-prosthecate bacteria وهـــذه يكـــون التناسل فيها عن طريق عملية التبرعم وهذه تشمل *أجنـــاس* *Blastobacter , Pasteuria , Seliberia*

ثانيا : بكتيريا ذات زوائد إفرازية مفرزة excreted appendages ولها مواســك holdfasts ، نواتج الإنقسام الثنائى قد لا تكون متساوية

أ– تتناسل بالإنقسام الثنـــائى فقـــط – وهـــذه تشـــمل أجنـــاس *Nevskia , Gallionella*

ب– تتناسل عن طريق عملية التبرعم وهذه تشمل جنس *Planctomyces*

أجناس غير محـــددة النســـب وهـــذه تضـــم أجنـــاس *Caulococcus , Metallogenium , Kusnezovia*

14. The sheathed bacteria

البكتيريا المغمدة عبارة عن كائنات خيطية ذات دورة حياة فريدة تتضمن تكون خلايا سابحة بفلاجلات flagellated swarmer cells وتتراص خلاياها العصوية المستقيمة بنظام طولي بداخل أنبوبة طويلة أو غمد sheath. وتكون الغمد هو أهم صفة تميز هذه المجموعة من البكتيريا ، و ربما كانت هذه الخيوط trichomes أشبه حالاً بالطحالب. وقد تتفرع الخيوط تفرعاً كاذباً ، وقد يحدث أو لا يحدث ترسيب من أكاسيد الحديد أو المنجنيز iron or manganese encrustation أو هما معاً حول الغلاف. والبكتيريا المغمدة شائعة في مواطن المياه العذبة الطينية بمحتواها من المادة العضوية ، والمياه الراكدة ، مثل مياه المجاري الملوثة ، مياة الصرف و المصادر المائية الملوثة بمياه المجاري والمواسير الحديدية ، وحدات الحمأة المنشطة Activated sludge plants

الخلايا المفردة المكونة للخيوط filaments عصوية مستقيمة غالباً ، سالبة لجرام ذات حزم من الفلاجلات الطرفية أو التحت قطبية subpolar ، و تشبه في مظهرها أفراد جنس *Pseudomonas* أو تكون الخلايا الفردية في الخيط أسطوانية أو أشبه بالقرص disc-shaped مثل أفراد الأجناس *Phragmidiothrix Crenothrix* وتقوم هذه البكتيريا بنشاط كبير في دورة العناصر خاصة (حديد ، منجنيز) في الطبيعة حيث توجد أيضا في التربة الزراعية. كيموأورجانوتروفات chemoorganotrophs تتميز بالأيض التنفسي فهي هوائيات حتماً ولا يمكنها إجراء الأيض التخميري. بعض الأجناس تكون ما يسمي "ماسك hold – fast " كما في جنس *Sphaerotilus*، ووظيفته تثبيت الخيوط بأسطح البيئات الصلبة النامية عليها، وتسبب هذه الميكروبات القوام المخاطي اللزج حول جدر مواسير المياه وفي النهاية تؤدي الي قفل أو سد هذه المواسير.

وكذلك فانها مسئولة عن الحالة الضارة المسماه " تنفيخ Bulking " فالكتل المتشابكة من خيوط Sphaerotilus تزيد عن حجم الحمأة sludge وتجعلها منتفخة فلا تترسب في أحواض التسوية الأمر الذي يخلق مشاكل عديدة في ترويق الحمأة. والأفراد التي تلعب أدوارا في أكسدة مركبات الحديد تسمي بكتيريا الحديد iron bacteria ، ومن أشهرها الميكروب *Sphaerotilus natans* ولو أن جنس *Leptothrix* يعتبر من مؤكسدات المنجنيز إلا أنه ليس هناك ايه أدلة علي مقدرته علي العيش ليثوتروفيا أو حتي ميكسوتروفيا ، فهو غير قادر علي النمو في بيئة غير عضوية تماما. تحتوي علي Mn^{2-} كمعدني وحيد للالكترون في توليد الطاقة. علاوة علي ذلك ، فإن وجود المركبات العضوية في بيئة النمو جنبا الي جنب مع ملح المنجنيز Mn^{2+} لم يؤدي إلي زيادة في كفاءة النمو عما إذا كانت المركبات العضوية موجودة وحدها دون المنجنيز. وعلي ذلك يصبح الدور الذي تلعبه عملية أكسدة المنجنيز ، والفائدة التي تعود علي الميكروب من جرائها غير مفهومة.

ولقد جمعت كل البكتيريا ذات المقدرة علي تكوين الغمد sheath معا في سبعة أجناس هي *Sphaerotilus. Leptothrix. Streptothrix. Lieskeella, Phragmidiothrix. Crenothrix. Clonothrix*

وصنفت داخل هذا الجزء علي أساس مجموعة من الخصائص تشمل ما يلي

١- حركة الخلايا الفردية أي وجود أو غياب الفلاجلات.

٢- ترسيب أكاسيد الحديد أو المنجنيز علي هيئة قشرة بالغمد sheath encrustment.

٣- تثبيت أو عدم تثبيت الخيوط stheath attachment بأسطح المواد أو الأوساط الصلبة فى بيئة النمو.

٤- شكل الخيط عند القمة tip.

15. Non photosynthetic non fruiting gliding bacteria

Order I : Cytophagales; families and genera of uncertain affiliation

Order I : Cytophagales

وبها ١٣ جنسا مصنفة فى أربعة عائلات كما يلى :

Family 1 : Cytophagaceae
Cytophaga, Flexibacter, Herpetosiphon, Flexithrix, Saprospira, Sporocytophaga.

Family 2 : Beggiatoaceae
Beggiatoa, Vitreoscilla, Thioploca

Family 3 : Simonsiellaceae
Simonsiella, Alysiella

Family 4 : Leucotrichaceae
Leucothrix, Thiothrix

Families and genera of uncertain affiliation :

- Genus Toxothrix
- Family Achromatiaceae (Achromatium)
- Fam. Pelonemataceae : Pelonema, Achroonema, Peloploca, Desmanthos

فنجد أن بعض أفرادها كيمولورجانوتروفي chemoorganotrophs وبعضها كيموليثوتروفي chemolithotrophs (مثل بعض أفراد عائلة Leucotrichaceae) والبعض الآخر ميكسوتروفى mixotrophis. الرتبة تشمل أربعة عائلات تشترك جميعا فى عدم قدرتها على تكوين الأجسام الثمرية fruiting bodies ، وهى أهم خاصية تفريقية تميزها عن أفراد رتبة

Myxobacterales. البعض منها يكون مرحلة السكون المعروفة بالميكروسيست microcyst وكـذلك تركيـب خـاص يسـمى جونيـدات (sing. gonidia gonidium) كوسيلة للحفاظ على النوع بالتكاثر والإنتشار تحت الظروف غيـر الطبيعية. فالجونيدات يكونها الميكروب عندما تسوء الظروف البيئيـة وتصـبح غير ملائمة للنمو السريع ، وعندئذ تستدير الخلايا الفردية من الخيط وتتحـول إلى تراكيب شبه بيضية ovoid structures كل منها يسمى جونيدة gonidium، وهذه تتحرر فرديا – غالبا من أطراف الخيوط. البعض من أفراد الرتبة قـادر على تحليل السليلوز بنشاط وبسهولة ، والكثير من هذه البكتيريا يتميز بترتيـب خلاياه بنظام طولى يشبه الخيط trichome or filament ، والخيوط قد تكـون مثبته أو ممسوكه من أحد طرفيها attached at one end كما فى حالـة أفـراد عائلة Leucotrichaceae وقد لا تكون مثبتة (غير ممسوكة) not attached كما هو الحال فى عائلة Beggiatoaceae تتكاثر الأفراد بحدوث الإنفلاق الخلـوى (الثنائى) فى الخلايا فى أى منطقة من مناطق الخيط أو فى الخلايا التى تتواجـد مفردة – كما أن التكاثر يتم عن طريق تكوين جونيـدات gonidia فـى عائلـة واحدة وهى Leucotrichaceae ، حيث نجد أن خيوط هذه العائلة غير متحركة إطلاقا لأنها تكون مثبتة ، لكن خلايا التكاثر التى تعرف بالجونيدات يمكنها القيام بحركة زحفية gliding movement.

والخصائص التصنيفية فى تقسيم هذه الرتبة إلى عائلات تشمل ما يلى :

١- الحركة الإنزلاقية للخلايا ، الخيوط والجونيدات.

٢- وجود صبغات كاروتينية فمثلا نجد أن أفراد عائلـة Cytophagaceae ملونة pigmented فى حين تكون أفراد العـائلات Beggiatoaceae ، Simonsiellaceae غير ملونة nonpigmented.

٣- شكل الخلية الخضرية المفردة.

٤- وجود أطوار السكون resting stages

٥- وجود الكبريت أو كربونات الكالسيوم فى الخلايا.

٦- شكل الخيط filament وإتصاله بالوسط الطبيعى الذى يعيش فيه فعندما تكون خيوط أفراد العائلات Leucotrichaceae, Simonsiellaceae مثبته أو ممسوكة attached نجد أن خيوط أفراد العائلات Beggiatoaceae, Cytophagaceae غير مرتبطة not attached.

وبخصوص عائلة الـ Cytophagaceae فنجد أن الخصائص التصنيفية لأجناسها الستة تتلخص فى تكوين الميكروسيست ، شكل الخلية ، السليلوز والشيستين. ويعتبر جنس *Cytophaga* (family Cytophagaceae) من الأجناس الهامة فى تحليل السليلوز فى التربة. أفراده هوائيات حتماً إلى لاهوائيات إختياراً ودرجة الحرارة المثلى تتراوح ما بين ٢٠-٣٠ °م. وتجدر الإشارة إلى أن الأفراد التى تعيش مائياً aquatic cytophagas من هذا الجنس تضم عدداً من الأنواع الممرضة للأسماك. من أكثر هذه الممرضات أهمية *Cytophaga lytica* ، *Cytophaga columnasis* – وهذين النوعين يرتبطان بالأوبئة الشديدة فى أسماك السالمون Salmonid fishes. والسلالات الضارية من هذه الميكروبات يمكنها إصابة السمك بمجرد اللمس ، الذى يتطور إلى إصابة جهازية سريعة تهلك أعداداً كبيرة من أسماك السالمون الصغيرة fingerlings فى المفرخات hatcheries فى خلال أيام قليلة.

أما عائلة Beggiatoaceae فتتواجد أفرادها فى خيوط trichomes ولا يمكن مشاهدة الخلايا المكونة للخيط إلا عقب صبغها – تشبه كثيراً أفراد عائلة Oscillatoriaceae من الطحالب الخضراء المزرقة فيما عدا غياب الكلوروفيل. وأفراد هذه العائلة تعرف ببكتيريا الكبريت الخيطية عديمة اللون

colorless filamentous sulfur bacteria. وتتشابه أفراد جنس Beggiatoa مع أفراد جنس *Oscillatoria* من الطحالب الخضراء المزرقة ، والخيوط لا تحاط بأغلفة – الخيوط متحركة حركة زحفية. أما جنس *Thioploca* ، فالخلايا تكون خيوط مقسمة وتتواجد فى حزم متوازية محاطة بغلاف لزج slimy sheath سميك مكون من مواد هلامية لزجة ، وقد تتحرك الخيوط الفردية بداخل الغلاف اللزج السميك حركة زحفيه. أما جنس *Vitreoscilla* فأفراده تشبه أفراد جنس *Beggiatoa* فيما عدا وجود حبيبات الكبريت حيث تكون غائبة من خلايا *Vitreoscilla* حتى لو نميت فى بيئة تحتوى على H_2S.

جنس *Thioploca* ، *Beggiatoa* عبارة عن بكتيريا كيموأورجانوتروفيه أساساً ، ولكن فى حالة وجود مواد عضوية فإنها تؤكسد H_2S وترسب حبيبات كبريت داخلية. ومن الأنواع الشائعة *Beggiatoa alba* – ويوجد بكثرة فى مياه المجارى وخاصة الغنية منها بكبريتيد الهيدروجين حيث يحصل على طاقته من أكسدة مركبات الكبريت المتعددة بما فيها يد٢كب ، كب ، الثيوكبريتات ، تتراثوينات إلى كبريتات SO_4^{-2}. وحاجة هذا الميكروب للأوكسجين ضئيلة ، ويتراوح طول خيطه من ٣ ميكرون حتى بضعة ملليمترات. وهذا الميكروب له القدرة على تخزين الكبريت العنصرى على صورة حبيبات غروية داخل خلاياه عند توافر يد٢كب فى وسط النمو ، والكبريت المرسب يكسب النمو على الأطباق مظهراً لبنياً مميزاً ، وينمو بضعف عند ضآلة أو عدم وجود يد٢كب.

أما عائلة Leucotrichaceae فهى تشابه الطحالب الخضراء المزرقة فى كثير من الصفات – لكن تختلف عنها فى عدم وجود صبغات التمثيل الضوئى. الأفراد هوائيات حتماً ، كيموليثوتروفات أو كيمواورجانوتروفات ،

تعيش فى الأوساط المائية. وتحتوى العائلة على جنسان أحدهما *Thiothrix* ومنه النوع المثالى type species المسمى *Thiothrix nivea* ويحتل مكاناً هاماً فى دورة الكبريت فى الطبيعة ، وهو غالبا أوتوتروفى إجباراً obligate autotroph. والجنس الثانى هو *Leucothrix* والنوع المثالى به هو *Leucothrix mucor* وهى ميكروبات كيمواورجانوتروفيه.

أما عائلة Simonsiellaceae فتضم مجموعة من البكتيريا المكونة للخيوط المسطحة flat filaments وتتواجد غالباً فى التجاويف الفمية oral cavities للفقاريات. تحتوى العائلة على جنسين هما *Simonsiella* ويضم بكتيريا كيمواورجانوتروفيه ذات نظم أيضية تخمرية وتنمو جيداً وبدرجة أفضل فى وجود الدم أو المصل. هوائيات إجباراً ، تتواجد ضمن الفلورا الفمية oral flora أى العشيرة الميكروبية الطبيعية للإنسان والحيوانات. والجنس الثانى هو *Alysiella* ويضم بكتيريا كيمواورجانوتروفيه ذات نظم أيضية تخمرية تنمو بدرجة أفضل فى حالة تواجد الدم أو السيرم ، هوائيات إجباراً تستوطن التجاويف الفمية للحيوانات ومنها النوع المثالى المعروف *Alysiella filiformis*

16. The fruiting gliding bacteria

Cells aggregate to form fruiting bodies under suitable environmental conditions

Order : Myxobacterales

The Gliding bacteria

تتميز البكتيريا التى تتبع هذا الجزء بمرونة جدر الخلايا ، وأيضاً بنوع من الحركة الإنزلاقية gliding movement على السطوح الصلبة

النامية عليها. ولقد صنفت هذه البكتيريا فى رتبتين two orders وبعض العائلات والأجناس غير محددة النسب – على النحو التالى :

Order I : Myxobacterales

وبها ثمانية أجناس مصنفة فى أربعة عائلات كما يلى :

Family 1 : Myxococcaceae (Myxococcus)
Family 2 : Archangiaceae (Archangium)
Family 3 : Cystobacteraceae (Cystobacter, Melittangium, Stigmatella).
Family 4 : Polyangiaceae (Polycengium, Nannocystis, Chondromyces.

الخلايا المفردة عصوية أو إسطوانية ذات حواف مستديرة وأحياناً حادة، تتكاثر بالإنقسام الثنائى البسيط العرضى ، سالبة لجرام ، كيمواورجانوتروفيه ، هوائية حتماً ، تحصل على طاقتها بالتنفس. عندما تنمو فى ظروف بيئية طبيعية فإن الخلايا تتجمع لتكون ما يسمى " الأجسام الثمرية أو الحوصلات " fruiting bodies or cysts ، وهذه يمكن رؤيتها بالعين المجردة ، وتتكون داخلها أو عليها الحويصلات microcysts – والأخيرة عبارة عن خلايا بيضية أو مستديرة وتعتبر طوراً للسكون resting stage. وتتكون الأجسام الثمرية من تجمع عديد من الخلايا الخضرية والتى تتماسك مع بعضها بالمواد المخاطية slime المميزة لها والتى تفرزها فى معظم الأحيان.

والإحتياجات الغذائية لها غير معروفة على وجه الدقة ، ولكن معظم الأفراد المعروفة قد تتواجد بالتربة الزراعية والسماد البلدى ، وتنمو هذه الميكروبات بسرعة على المواد النباتية المتحللة والسباخ البلدى. معظمها لا ينمو أو ينمو بضعف على البيئات البكتيريولوجية المعملية العادية ، فعزلها

فى صورة مزارع نقية يعتبر أمراً فى غاية الصعوبة. وقد تصنف بكتيريـــا هذه الرتبة إلى مجموعتين فسيولوجيتين – هما :

١- محللات البكتيريا Bacteriolytic ones : وهى تلك القادرة على إذابـــة وهضم بكتيريا من أنواع أخرى حيث تتغذى عليها وهذه المجموعة تشمل عـــائلات Myxococcaceae ، Archangiaceae ، Cystobacteraceae ومعظم أفراد العائلة الرابعة (Polyangiaceae).

٢- محللات السليلوز Cellulolytic ones : وهى التى تحلل السليلوز ، وهذه مجموعة فى عائلة Polyangiaceae. ولذا يمكن عزل أفــراد المجموعـــة الأولى وتنميتها فى المعمل على مزارع بكتيرية. ويبدوأن نموها الغزير فى السماد البلدى راجع إلى إحتوائه على نسبة كبيرة من البكتيريا التى تتغـــذى عليها. ومن الخصائص التصنيفية لهذه الرتبة إلى عائلات ما يلى :

١- شكل الخلية الخضرية وشكل حوافها.
٢- وجود الميكروسيست microcyst وشكله.
٣- وجود سبورانجيات sporangia (sing. Sporangium) تضم بداخلها الميكروسيستات microcysts.
٤- تشابه الميكسوسبور myxospore بالخلايا الخضرية.

تجدر الإشارة إلى أن عائلة Polyangiaceae تحتـــوى علـــى بعـــض الطفيليات parasites مثل Polyangium parasiticum لدرجـــة أنـــه لا يمكـــن زراعته على بيئة صناعية ، وينمو هذا النوع فقط علـــى طحلـــب كلادوفـــورا Cladophora فى الماء. فى بداية الأمر يعيش الميكروب خارجيا على الطحلب كمترمم saprophyte ثم لا يلبث أن يدخل خلايا الطحلب مدمراً إياها. وأول مـــا عرفت تلك الظاهرة كانت فى أحد البرك فى فيينا (النمسا). والأسبورانجيات فى أفراد جنس Polyangium تكون جالسة sessile مفردة أو فى تجمعات.

17. Gram Positive Cocci

ويدخل تحت هذا القسم ثلاث عائلات تضم إثنى عشر جنساً بكتيريا مصنفة على الوجه الأتى :

A- Aerobic and / or facultatively anaerobic

Family I : Micrococcaceae

Genus 1 : *Micrococcus*

Genus 2 : *Staphylococcus*

Genus 3 : *Planococcus*

Family II : Streptococcaceae

Genus 1 : *Streptococcus*

Genus 2 : *Leuconostoc*

Genus 3 : *Pediococcus*

Genus 4 : *Aerococcus*

Genus 5 : *Gemella*

B- Anaerobic

Family III : Peptococcaceae

Genus 1 : *Peptococcus*

Genus 2 : *Peptostreptococcus*

Genus 3 : *Ruminococcus*

Genus 4 : *Sarcina*

وفيما يلي سوف نناقش هذه الوحدات التقسيمية :

أولا : عائلة الــ Micrococcaceae : الخلايا كروية spherical ذات أقطار ٠,٥-٣,٥ ميكرون ، تتميز بأن الإنقسام الثنائى يحدث فيها فى أكثر من مستوى واحد ، فتكون نظم تجمع الخلايا الناتجة عبارة عن تجمعات منتظمة أو غير منتظمة أو مكعبات. متحركة أو غير متحركة ، كيمولورجانوتروفيه

تحصل على طاقتها بالتنفس أو بالتخمر. إذا إستخدمت الجلوكوز تنتج منــه حمض بدون غاز. متطلباتها الغذائية متنوعة. جميع السلالات يمكنها النمــو فى وجود ٥ % ص كل ، والكثير منها ينمو فى وجود ١٠-١٥ % ص كل. موجبة للكتاليز ، هوائيات أولاهوائيات إختياراً. نسبة الجوانين والســيتوزين (G+C) فى الــDNA تتراوح ما بين ٣٠ و ٧٥ مول % ، الجنس المثــالى type genus للعائلة هو *Micrococcus*

Genus 1 : *Micrococcus*

تتميز خلايا أفراد هذا الجنس بأنها ذات أقطار ٠,٥-٣,٥ ميكرون ، كيمواورجانوتروفيه chemoorganotrophs ذات نظام أيضى تنفسى حتمــاً strictly respiratory. نظــام إنتقــال الإلكترونـــات electron transport system يتكــون مــن الميناكوينونـــات menaquinones والســيتوكرومات cytochromes ، وقد توجــد صــبغات كاروتينيـــة. ويعتبــر الأوكســجين هو المستقبل العام للإلكترون. يمكن لأفراد الجنس إستخدام مجموعة كبيرة من مركبات الكربون مثل البيروفات ، الخلات ، لاكتات ، سكسينات ، جلوتامات وكربوهيدرات. يؤكسد الجلوكوز أساساً إلى خلات أو أكسدة تامة إلى ك أ٢ + يد٢أ. يتم أيض الجلوكوز عن طريق إنزيمــات مســار الهكســوز أحــادى الفوســفات Hexose mono phosphate HMP pathway ودورة حمــض الســتريك TCA cycle. وقــد يوجــد أيضــا دوراً فعــالاً لــدورة cycle glycolysis. حمض التيكويك teichoic acid غير شائع فى هذه البكتيريــا. سالبات لإختبار الإندول ، موجبات للكتاليز ، هوائيــات ، درجــة الحــرارة المثلى ٢٥-٣٠ °م. جميع أفراد الجنس تنمو فى وجود ملح كلوريد الصوديوم حتى تركيز ٥ %. أفراد الجنس تستوطن التربة والمياه العذبة بطريقة عادية،

كثيراً ما تتواجد على جلد الإنسان والحيوانات الأخرى. النوع المثالى type species للجنس هو *Micrococcus luteus*

Genus 2 : *Staphylococcus*

أفراده ذات خلايا كروية spherical أقطارها ٠,٥-١,٥ ميكـــرون ، تتواجد مفردة ، فى أزواج ، وتنقسم بطرق تميزها فى أكثر من مستوى واحد لتكون تجمعات غير منتظمة أشبه بعناقيد العنب ، غير متحركـــة. يحتـــوى الجدار الخلوى على مكونين أساسيين هما : الببتيدوجليكان peptidoglycan وأحماض التيكويك teichoic acids المرتبطة معه. علاوة على هذا توجـــد مـــوادا أنتيجينيـــة antigenic مـــن ســـكريات عديـــدة polysaccharides وبروتينات. الأفراد كيمواورجانوتروفيه ذات أيض تنفسى وتخمرى ، تنـــتج الكتاليز ، نظام النقل الإلكترونى يتكون من الميناكونيونات menaquinones وسيتوكرومات a, b, o. وقـــد توجـــد صـــبغات كاروتينيـــة. الأوكســـجين المستقبل النهائى العام للإلكترون. يمكنها أن تستفيد من عدد كبيـــر مـــن الكربوهيدرات ، خاصة فى وجود الهواء مع إنتاج حمض بدون غاز، وتحت الظروف اللاهوائية ، فإن الناتج الأساسى لتخمير الجلوكـــوز هـــو حمـــض اللاكتيك ، ولكن فى وجود الهواء فإن الناتج الأساسى يكون حمض الخليـــك ومعه كميات قليلة من ك أ$_2$. عادة ما يتكون الأســـيتوين "acetoin" a.m.c كمنتج نهائى end-product لأيض الجلوكوز.

تفرز ميكروبات الجنس إنزيمـــات خـــارج الخليـــة extracellular وتوكسينات thermostable exotoxins تقاوم الغليان لأكثر من ٣٠ دقيقة فى الوسط. فهى كثيراً ما تمتلك المقدرة على تحليل كثير من المواد البروتينيـــة والدهنية ، لها المقدرة على تحليل الهيبورات hippurate والأرجنين. لا تنتج الإندول ، لاهوائيات إختياراً لكن النمو يكون أسرع وأغزر تحت الظـــروف

الهوائية ، درجة الحرارة المثلى ٣٥-٤٠ °م. الحموضة المثلى هى من ٧,٠-٧,٥ pH. معظم السلالات تنمو فى وجود تركيز من ملح ص كل قدره ١٥ % أو ملح الصفراء بتركيز ٤٠ %. ترتبط أساسا فى تواجدها بالجلد وغدد الجلد skin glands والأغشية المخاطية للحيوانات ذوات الدم الحار warm-blooded animals. تعتبر أفراد الجنس عوائلاً hosts لكثير من البكتريوفاجات bacteriophages.

المجال العوائلى للإستافيلوكوكات واسع ، وكثير من السلالات تعتبر ممرضات كامنة potential pathogens. الأماكن التى تستوطنها هذه الميكروبات مثل الجلد والأغشية المخاطية تعتبر مسئولة عن نسبة كبيرة من الإصابات التى تحدث للإنسان والتى تسمى فى أحوال كثيرة إصابات ستاف staph infections. يضم الجنس (*Staphylococcus*) حوالى ١٩ نوعا لكن أكثرهم أهمية كممرضات للإنسان هى الأنواع التالية :

١- *S. aureus*

٢- *S. epidermidis* (وقد يسمى أحيانا *S. albus*)

٣- *S. saprophyticus*

ويعتبر *S. aureus* وهو النوع المثالى type species أكثر الثلاثة خطورة من الناحية الإمراضية خاصة وقد تزايدت الأدلة على مصاحبة الإثنين الأخيرين لحالات إصابة أى توافرت الأدلة على إعتبارهما ممرضات فرصية ولم يعد ملائما النظر إليهما كما كان سابقا كمعايشات غير ضارة harmless commensals

ولقد عزل *Staphylococcus aureus* فى البداية من الصديد pus الذى يخرج من الجروح ، وهو يتواجد فى الأغشية الأنفية ، جريبيات الشعر، جلد و شرج الحيوانات ذوات الدم الحار. سلالات هذا الميكروب تعتبر

ممرضات كامنة تسبب أنواعاً كثيرة من الإصـــابات infections والتســـممات intoxications ، boils ، meningitis ، furanculosis ، osteomyelitis ، pyemia، abscesses ، suppuration of wounds ، وكذلك التسمم الغذائي food poisoning الذي يعرف بالتســـمم الإســـتافيلوكوكي staphylococcal poisoning أو staphylococcism. وتتلخص أعراض التسمم الإستافيلوكوكي في الغثيان ، القيء ، المغص ، الإسهال ، الإعياء بصفة عامة. وتحدث هـــذه الأعراض بصورة حادة لمدة ساعات فقط. وفترة الحضانة وهي الفترة التـــي تمر بعد تناول الغذاء المحتوى على التوكسين الخاص بالتسمم الإستافيلوكوكي تتراوح بين ١ إلى ٧ ساعات ، وعادة تكون ٣ إلى ٦ ساعات.

ثالثاً : عائلة Streptococcaceae

الخلايا كرويـــة spherical أوبيضـــية ovoid فـــي أزواج pairs أو سلاسل chains ذات أطوال متباينة أو في أربعات tetrads. غير متحركة أو نادراً ما تكون متحركة. كيمواورجانوتروفيه بنظام أيضي تخمري ، مكونـــه أحماض لاكتيـــك ، خليـــك ، فورميـــك ، وكـــذلك الإيثـــانول و ك أ٢ مـــن الكربوهيدرات. المتطلبات الغذائية معقدة ومتباينة. نتيجة إختبـــار الكتـــاليز متغيرة variable ، البنزيدين benzidine سالب. لاهوائيات إختياراً ، تحتوى العائلة على خمسة أجناس ، المثالي هو *Streptococcus*.

العائلة تعتبر مهمة من الوجهة الغذائية و الطبية ، حيث أن أغلبهـــا تخمر سكر الجلوكوز منتجه منه حمض لاكتيك أساساً مع آثار ضـــئيلة مـــن حمض الخليـــك والإيثـــانول و ك أ٢ وهـــذه تســـمى متجانســـات التخمـــر Homofermentatives مثل أفراد أجناس *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*. والبعض الآخر من هذه العائلة ينتج من التخمر كميات تكـــاد متوازنة من حمض اللاكتيك والخليك والإيثانول و ك أ٢ وهذه تسمى خليطات

التخمر Heterofermentatives مثل أفراد جـــنس *Leuconostoc*. كمـــا أن هناك الكثير من الإستربتوكوكات streptococci ويعتبر هام جداً من الناحية الطبية ، مثل الكثير من أفراد جنس *Streptococcus*

Genus 1 : *Streptococcus*

خلاياه كروية إلى بيضية ذات أقطار أقل من ٢,٠ ميكرون (وتختلف بإختلاف النوع) ، تتواجد على هيئة أزواج أو سلاسل عند تنميتها فى بيئات سائلة. عادة تكون السلالات المتحركة فـــى المجموعـــة الســـيرولوجية D. كيمواورجانوتروفيه بنظام أيضى تخمرى. والناتج الرئيسى السائد من تخمر الجلوكوز هو حمض لاكتيك يمينى الدورة dextrotatory (متجانس التخمـــر homofermenters) ، بعض الأنواع تخمر الأحماض العضوية مثل ماليـــك وستريك والأحماض الأمينية مثل سيرين وأرجنين. توجـــد الصـــبغات فـــى المجموعة D , B فقط وعادة حمراء أو صفراء.

النمو القشرى pellicles لا تتكون أبداً. لا تحتوى على مركبات الهيم heme compounds ، ســـالبة للبنزيـــدين benzidine وســـالبة للكتـــاليز. لاهوائيات إختياراً. قد يغير الأوكسجين أو أى مستقبلات أخرى من طبيعـــة المنتجات النهائية end products لأيض الكربوهيدرات. قـــد يتـــراكم فـــوق أكسيد الأيدروجين فى حالة وجود الأوكسجين. المتطلبـــات الغذائيـــة الـــدنيا (M.N.R) بصفة عامة معقدة لكنها متغيرة وقد تشمل على أحماض أمينية ، بيورينات ، بيريميدينات ، ببتيدات ، فيتامينـــات وأحيانـــاً أحمـــاض دهنيـــة ومحتوى عالى من ك أ$_2$. وعلى الناحية الأخرى فإن سلالات نـــوع واحـــد (Streptococcus bovis) قد تتطلب فقط جلوكوز وأملاح غير عضوية وملح أمونيوم لكى تنمو. درجة الحرارة المثلى حوالى ٣٧ ^{o}م تقريباً. النوع المثالى type species للجنس هو *Streptococcus pyogenes*

ولقد وضع شيرمان J.M. Sherman سنة ١٩٣٠ تصنيفاً بيوكيميائياً للإستربتوكوكات ثم قامت ريبيكا لانسفيلد Rebecca Lancefield عام ١٩٣٣ بعمل تصنيف لهذه البكتيريا والطبية منها بصفة خاصة مستند إلى وجود أنتيجينات معينة فى أو على جدرها الخلوية ، حيث لاحظت أنه بوضع هذه البكتيريا فى حمض مخفف (pH2) والتسخين عند درجة ١٠٠ °م لمدة ١٠ دقائق يخرج من جدرها مادة كربوهيدراتية ذائبة لها صفة أنتيجينية antigenic ، وأطلقت على هذه المادة إسم "C carbohydrate". ووجدت أنه يمكن إستخراج هذه المادة من الخلايا بواسطة الفورماميد formamide مع التسخين عند ١٥٠ °م لمدة ١٥ دقيقة. وجميع الإستربتوكوكات بإستثناء مجموعة الفيريدانس viridans group تمتلك هذه المادة الكربوهيدراتية. وعلى ضوء التنوع الأنتيجينى للمادة الكربوهيدراتية فى عديد من العزلات الإستربتوكوكيه أمكن عمل ١٣ مجموعة ، سميت مجموعات لانسفيلد Lancefield groups رمز لها بالحروف A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O. ومن ثم ، فإن الإستربتوكوكات فى مجموعة A تمتلك نفس المادة الكربوهيدراتية الأنتيجينية antigenic C carbohydrate. والبكتيريا فى المجموعة B أيضاً تمتلك نفس الطراز من المادة فيما بينها ، ولكن يختلف عن طراز المادة فى المجموعة A. علاوة على ذلك ، وجد أن أفراد كل مجموعة يكون لها نفس الموطن ، فمثلاً المجموعة A تضم ممرضات للإنسان أساساً ، المجموعة B تضم ممرضات للماشية والإنسان ، وهكذا.

وهناك تقسيماً آخر للأنواع بهذا الجنس (*Streptococcus*) يقوم على التفاعل الحادث فى بيئة آجار الدم ، فهناك أنواع يمكنها عمل منطقة تحلل من طراز B أى B-hemolysis على آجار دم الأغنام ، وهذا النوع من التفاعل يميز أفراد مجموعة لانسفيلد A, B, C وبعض سلالات من D.

وهناك أنواع لها القدرة على عمل تفاعل أو تحلل لكرات الدم من نوع ألفا -α hemolysis وهـذه تشـمل *Streptococcus pneumoniae* و viridans streptococci. وهناك أنواعاً لا تحدث أى نوع من التحلل لكـرات الـدم ، لكنها غير ذات فائدة من الناحية الإكلينيكية.

وفيما يلى موجزاً عن تقسيم شيرمان لأفراد الجنس إلى أربعة مجموعات :

1- The Pyogenic group

وتضم هذه المجموعة أنواعاً ممرضة وتسبب إلتهاب الضـرع فـى الأبقار وعديداً من الأعراض المرضية فى الإنسان بدءاً من القرح التعفنيـة فى الـزور إلـى الحمـى الروماتزميـة وإلتهـاب الكلـى ذو الحبيبـات glomerulonephritis مـروراً بإلتهـاب البلعـوم pharyngitis والحمـى القرمزية. ومن أفراد هذه المجموعة ميكروب *Streptococcus pyogenes*

2- The Viridans group

أفراد هذه المجموعة هامة فى صناعات الألبان ومنتجاتهـا – ومـن أمثلتها ميكروب *S. thermophilus* لا تنمو أفراد هذه المجموعة عند درجـة ١٥ °م ولكن تنمو عند ٤٥ °م.

3- The Lactic group

تحتوى هذه المجموعة على بكتيريا الألبان الهامة ، مثل *S. lactis* ، *S. cremoris* وتنمو عند درجة ١٥ °م ولا تنمو عنـد درجـة ٤٥ °م ، ولا تتحمل ملوحة أكثر من ٢-٤ % ص كل.

4- The Enterococcus group

من أفراد هذه المجموعـة *S. faecalis* (*Enterococcus faecalis*) ويعتبر من الأدلة الميكروبية الجيدة فى الكشف عن التلوث البرازى فى المياه أو الأغذية خاصة إذا لم تفيد نتيجة فحص العينات عن بكتيريا الكوليفـورم ، أو فى حالة صعوبة تفسير النتائج. ومميزات أفراد هذه المجموعة أنها تقاوم

حرارة البسترة حيث تتواجد فى اللبن المبستر ، تتحمل ملوحة تصل إلى ٦,٥ % أو أكثر من ص كل بعكس المجموعات الثلاثة السابقة ، وتستطيع النمو عند pH ٩,٦ ، وتنمو فى نطاق واسع من درجات الحرارة ، فبعضها ينمو عند ٥-٨ °م ، وأغلبها ينمو عند ٤٨-٥٠ °م وتتوطن فى أمعاء الإنسان والحيوان ، ومن هنا يعتمد عليها كدليل كشفى لتلوث الأغذية أو المياه بالمواد البرازية أو مياه المجارى. على الرغم من كثرة أعداد أنواع الإستربتوكوكات *Streptococcus* إلا أن مرض الإنسان غالباً ما يرتبط بالأنواع :

1- *Streptococcus pyogenes* 2- *Streptococcus agalactiae*

3- *Viridans streptococci* 4- *Streptococcus pneumoniae*

5- *Enterococcus faecalies*

والنوع الأخير E. faecalies كان يسمى سابقا *Streptococcus faecalis* إلى أن درست الخصائص التهجينية للـDNA وثبت منها أنه لا بد من فصله فى جنس مستقل جديد.

ثالثا : عائلة Peptococcaceae

أفراد العائلة كرويات cocci تتفاوت أقطارها من ٠,٥-٢,٥ ميكرون للخلية. تتواجد مفردة ، فى أزواج ، أربعات أو تكتلات غير منتظمة وأحياناً على صورة تجمعات مكعبة الشكل ، الفلاجلات ، الحركة ، والجراثيم الداخلية غير موجودة ، لاهوائية. كيمواورجانوتروفيه ذات متطلبات غذائية معقدة. يتكون الغاز الذى تنتجه أساسا من ك أ٢ ، وعادة تنتج يد٢ فى المزارع من الأحماض الأمينية أو الكربوهيدرات أو منهما معاً. توجد هذه البكتيريا فى الفم وفى الأجهزة المعوية والتنفسية للإنسان والحيوانات الأخرى، وكثيراً ما توجد فى الإنسان بالمسالك البول تناسلية لحالات طبيعية وكذلك مرضية للإناث. تحتوى العائلة على أربعة أجناس هى *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Sarcina*.

18. Endospore-forming Gram-positive rods & cocci

تضم هذه المجموعة كل البكتيريا التى تتميز بخاصية تكوين الجـراثيم الداخلية . ولقد جمعت هذه البكتيريا فى عشرة أجناس هى ١- *Amphibacillus* و ٢- *Bacillus* و ٣- *Clostridium* و ٤- *Desulphotomaculum* و ٥- *Oscillospora* و ٦- *Sporohalobacter* و ٧- *Sporolactobacillus* و ٨- *Sporosarcina* و ٩- *Sulfidobacter* و ١٠- *Syntrophospora* . أفراد جنس *Bacillus* هوائية توجد بكثرة فى التربة الزراعية ، كما تظل جراثيمه ساكنة فى التربة مئات السنين . يسبب النوع *B. anthracis* الحمى الفحميـة للحيوانـات والإنسان . ويسبب النوعان *B. popilliae* و *B. lentimorbus* مرض milky-white disease لحشرات الخنفساء اليابانيـة (Japanase *Popillia japoniea* beetles) ولذلك تستخدمان فى المقاومـة الحيويـة biological control لهـذه الحشرات . ويسبب النوع *B. alvei* مرض Foulbrood لنحل العسل ، ويستخدم النوع *B. thuringiensis* فى مقاومة الحشرات التابعة لعـدة رتـب . وكـذلك يستخدم النوع *B. Sphaericus* فى مقاومة يرقات البعوض من جنسى *Culex* , *Anopheles* بيولوجياً . وتنتج بعض أنواع جنس *Bacillus* مضـادات حيويـة هامة مثل Polymyxin و Bacitracin . بعض أفراد الجنس تسـتخدم كأسـمدة حيوية مثل *B. megatherium* var. *phosphaticum* حيث يقوم بإذابة الفوسفات غير الذائبة بالتربة و *B circulans* الذى يحرر السـليكون والبوتاسـيوم مـن معادن الطين السليكاتية .

أما جنس *Clostridium* فأفراده لا هوائية إجباراً تعيش فـى القنـاة الهضمية للحيوانات وفى المجارى وفى التربة ، وتسـبب بعـض أنواعـه أمراضاً للإنسان مثل التتانوس Titanus (*C. tetanus*) والغرغارينا الغازية (*C. perfringens*) كما يسبب النوع *C. botulinum* وهو نوع خطر وغالباً

قاتل نوع من التسمم الغذائي يعرف بالتسمم البوتشـــوليني botulism . أمـــا النوع *C. pasteurianum* فيفيد في زيادة خصوبة التربة بتثبيت النيتروجين الجوي بطريقة حرة تحت الظروف اللاهوائية . أما جـــنس *Sporosarcina* فتنتشر أفراده بكثرة في التربة الخصبة ، ويلعب أحد أنواعه *S. ureae* دوراً نشطاً في تحليل اليوريا .

19. Regular, nonsporing Gram-positive rods

هي عصويات مستقيمة تتميز خلاياها بمظهر موحد دون إنتفاخات أو تفرعات أو أي تباينات خلوية أخرى ، قد يوجد بعضها فـــي ترايكومـــات . تضم هذه المجموعة عدة أجناس منها جنس *Lactobacillus* وهو من الفلورا الطبيعية للمعدة ويستخدم في المخمرات الغذائية ويعرف ببكتيريـــا حـــامض اللاكتيك العصوية ولا يستطيع أفراده تكوين معظم إحتياجاتها من الفيتامينات ولذلك تستخدم في الكشف عن محتوى الأغذية من الفيتامينات فيمـــا يســـمى بالتقديرات الحيوية Bioassay وجـــنس *Listeria* الـــذي يســـبب أمـــراض *Listeriosis* للإنسان والحيوان . وجنس *Renibacterium* الذي يتطفل على أسماك السلامون ويسبب مرض Kidey disease .

20. Irregular, nonsporing Gram-positive rod

عصويات منحنية قليلاً متعـــددة الأشـــكال polymorphic ، تظهـــر خلاياها إنتفاخات ، أو قد يكون لها دورة نمو تختلف فيها أشكال الخلايا من الكروي إلى العصوي ، وقد تأخذ الخلايا شكل خيطي في مرحلة مـــن دورة حياتها . تضـــم المجموعـــة عـــدد كبيـــر مـــن الأجنـــاس منهـــا جـــنس *Corynebactrium* الذي يسبب الدفتيريا للإنسان وجـــنس *Cellulomonas* وهو من محللات السليولوز ، وجنس *Propionobacterium* الذي يســـتخدم في إنتاج الغذاء . وجنس *Brevibacterium* المقاوم للملوحة والـــذي يتميـــز

بمستعمراته البرتقالية وعادة يوجد على سطح جبن الـBrick والـLimburger حيث يفرز البروتيز الذى يساعد فى تسويتها .

21. Mycobateria

هى بكتيريا هوائية غير متحركة ، عصويات منحنية قليلاً أو مستقيمة تبدى درجة من التفرع أحياناً موجبة لجرلم معظمها صامدة للأحماض . تحتوى جدرها الخلوية على أحماض ميكوليك تتألف من ٩٠ ذرة كربون . تحتوى هذه المجموعة على جنس وحيد *Mycobacterium* تسبب أنواعه العديدة لأمراض السل tuberculosis والجزام leprosy والإلتهاب الرئوى penuomonia .

22. Nocardioform actinomycetes

يشير مصطلح Nocardioform لأكتينوميستات ذات ميسيليوم يتكسر (يتجزأ) إلى وحدات كروية وعصوية . كثيراً ما تحتوى على كميات كبيرة من الليبيدات فى أغلفتها الخلوية ، صامدة للأحماض ، تضم عدد كبير من الأجناس أهمها *Nocardia* الذى يسبب أمراضاً رئوية وجلدية .

23. Actinomycetes with multilocular sporangia

بكتيريا تكون خيوط متفرعة تنقسم بحواجز طولية وعرضية تؤدى إلى وحدات شبه كروية . تضم عدداً محدوداً من الأجناس أهمها *Frankia* الذى يثبت النيتروجين تكافلياً فى عقد على جذور النباتات الخشبية مثل أشجار الكازورينا ويلعب دوراً هاماً فى خصوبة تربة أراضى الغابات بصفة خاصة .

24. Actinoplanetes

بكتيريا تتكون جراثيمها داخل حويصلات vesicles جرثومية أو حوافظ إسبورانجية sporangia ، ولها هيفات مقسمة ومتفرعة ولا يتجزأ، تضم خمسة أجناس منها *Micromonospora* الذى ينتج منه الـGentamicin .

25. Streptomycetes and related genera

بكتيريا هامة من الوجهة العلاجية ومن ناحية ومن ناحية إنتاجها لنواتج أيضية مفيدة . مؤكسدات عالية ، تكون ميسليوم هوائي وأرضي غزير التفرع . تضم جنس *Streptomyces* إلى جانب ثلاثة أجناس أخرى ، يعتبر جنس *Streptomyces* هو الجنس المثالي وهو هام في إنتاج المضادات الحيوية والتي لها دوراً هاماً في التوازن الميكروبي بالتربة إلى جانب دورها العلاجي للأمراض . كما تسبب بعض أنواعه أمراضاً للنباتات كالجرب العادي في البطاطس common potato scab الذي يسببه *S. scabies* وهذا يعتبر دوراً سلبياً في الطبيعة .

26. Maduromycetes

بكتيريا تحتوي على سكر madurose في جدرها الخلوية ، تكون ميسليوم أرضي متفرع لا يحمل جراثيم ولكن يحمل هيفات هوائية تتميز إلى سلاسل قصيرة من الجراثيم المفصلية أو الحوافظ الإسبورانجية التي تحوي من جرثومة إلى عدة جراثيم ومن أمثلتها *Microbispiora* و *Streptosorangium* .

27. Thermomonospora and related genera

بكتيريا ميزوفيلية وثرموفيلية تحتوي جدرها الخلوية على meso-diaminopimelic acid ، تنتج جراثيم (ليست جراثيم داخلية) تتوالد على الهيفات الأرضية والهوائية ، تضم جنس *Thermomonospora* وثلاثة أجناس أخرى قريبة الشبه به .

28. Thermactinomycetes

بكتيريا ثرموفيللية تحتوي جدرها الخلوية على meso-diaminopimelic acid ، تتوالد جراثيم مفردة على الهيفات لها نفس

تركيب الجراثيم الداخلية ، تحتوى على جنس وحيد هو *Thermoactinomycetes*

29. Other genera of Actinomucetes

تشمل هذه المجموعة الأكتينوميستات التى تم إكتشافها حديثاً ولم يتم دراستها دراسة مستفيضة بغرض وضعها فى أى من مجاميع الأكتينوميستات سابقة الذكر .

30. Mycoplasma

بكتيريا تفتقر إلى الجدر الخلوية ، تحاط خلاياها من الخارج بالأغشية السيتوبلازمية ، لذلك تتميز الخلايا بالمرونة ، وبأشكالها المظهرية المتعددة ، من الكروى وحتى الخيطى المتفرع . تسمح المرونة للكثير من الخلايا بالمرور خلال الأغشية البكتريولوجية . الميكوبلازما حساسة للتحلل بالصدمة الإسموزية التى تحدث على أثر تخفيف وسط النمو بالماء ، ويسبب غياب الجدار الخلوى لا تثبط الميكوبلازما بالتركيزات المرتفعة من البنسلين، لكن يمكن تثبيطها بالمضادات الحيوية الأخرى التى تؤثر على البروتين كالتتراسيكلين والكلورامفينيكول . يمكن زراعة الميكوبلازمات in vitro على أوساط غير حية غنية كبكتيريا لا هوائية أو إجباراً ، يبلغ حجم الجينوم genome بها ٢٠-٥٠ % من مثيله بالبكتيريا الأخرى التى تستطيع النمو على الأوساط الغير حية ويفسر هذا سبب إحتياجاتها الغذائية المعقدة وقدرتها التخليقية المحدودة . تشاهد مستعمراتها على الأجار بعدسة المجهر الصغرى كمستعمرات صغيرة جداً مطمورة فى سطح الأجار وعادة لها مظهر البيض المقلى . ومن أجناسها الهامة *Mycoplasma* الذى يحدث الـpenumonia وجنس *Ureaplasma* الذى يسبب الـurethritis .

II. Archaebacteria

تضم الأرشيابكتيريا المجاميع من ٣١ وحتى ٣٥ وهى تتبع البروكاريوتات Procarytes ، إلا أنها تختلف عن البكتيريا الحقيقية Eubacteria فى أنها لا يوجد بجدرها الخلوية بليبيدات غشائها السيتوبلازمى أحماض دهنية طويلة السلسلة مرتبطة بالجليسرول بروابط الإستر ester لكن يوجد كحولات متفرعة طويلة السلسلة (phytanols) مرتبطة بالجليسرول بروابط الإثير ether . وتختلف فى الخصائص المتعلقة بتخليق البروتين ففيها يعتبر المثيونين هو أول حمض أمينى يبدأ سلسلة بولى ببتيد جديدة (يقابله N-Formylmethionine فى البكتيريا الحقيقية) كما أن عملية Translation process تكون حساسة لفعل سم الدفتيريا فى حين لا تتأثر بالكلورامفينيكول حيث يقابل ذلك تأثيرات عكسية فى البكتيريا الحقيقية .

31. Methane Producing bacteria :

يدخل تحت هذا القسم مجموعة من البكتيريا ، خلاياها مفردة عصوية أو كروية ، متحركة أو غير متحركة ، موجبه أو سالبة لجرام ، لاهوائيات إجباراً ، تحصل على طاقتها من عملية تكوين الميثان Methanogenesis (biomethane formation or biomethanation) عن طريق إختزال ك أ٢ مستغلة بذلك الإلكترونات المنبعثة من خلال أكسدة مركبات مثل الفورمات والأيدروجين أو من تخمر مركبات عضوية مثل الخلات والميثانول وتكون الميثان و ك أ٢ والماء. وبعض هذه الميكروبات تستعمل ك أ٢ فى أكسدة كحول الإيثايل أو الأيدروجين لإنتاج الميثان. ولقد أمكن فى الحالة الأولى إثبات أن تكوين الميثان ينشأ من ك أ٢ وليس من الكحول كما دلت دراسات النظائر المشعة فى هذا الشأن.

وهذه البكتيريا وصفت فى عائلة واحدة هى : Family Methanobacteriaceae

والتى تضم ثلاثة أجناس يمكن التفرقة بينها على أساس أشكال الخلايا ونظم تجمعها. ويطلق على هذه البكتيريا مسميات كثيرة منها : Methane bacteria, Methanogenic bacteria, Methane formers, Methanogens. ولقد ثبت أنها ذات أشكال مورفولوجية وتراكيب مختلفة ، وذات درجة عالية من التخصص في مصادر حصولها على الطاقة. وتحتاج إلى ظروف لا هوائية حتمية جداً very strict anaerobes لكى تنمو ، بل أنها تتعرض للموت بسرعة على أثر فترات ضئيلة جداً من التهوية مقارنة بغيرها من اللاهوائيات. وعلى أيه حال فإن لها صفات مزرعية وفسيولوجية متشابهة ، ولقد ثبت أنها تحتوى على مركب فلوريسنتى fluorescent compound يرمز له به F_{420} يعمل كحامل للأيدروجين Hydrogen carrier. وهذا المركب الفلوريسنتى لم يوجد قط فى أي كائنات دقيقة أخرى. وبسبب خاصية الوميض العالية strong fluorescence فيه ، فإن بكتيريا الميثان يسهل التعرف عليها وتمييزها فى ميكروسكوب الوميض fluorescence microscope

ورغم أن بكتيريا الميثان تعد بروكاريوتية procaryotic ، إلا أنها تختلف فى منشأها وتطورها الوراثى أى أنها تعد phylogenetically different عن البكتيريا القياسية أو غالبية البروكاريوتات ، وكذلك الإيوكاريوتات Eukaryotes لدرجة أنه في تقسيم للبكتيريا سنة ١٩٨٤ خصص لها قسم خاص هو section 21 تحت إسم Archaeobacteria يضم عدد ١١ إحدى عشر جنساً – على النحو التالى:

1) *Methanococcus*
2) *Methanobrevibacter*
3) *Methanomicrobium*
4) *Methanospirillum*
7) *Methanothermus*.
8) *Methanolobus*.
9) *Methanoplanus*.
10) *Methanogenium*.

5) *Methanosarcina*
6) *Methanococcoides*
11) *Methanothrix*.

علاوة على بعض الأجناس الأخرى التى ليست مكونـــة للميثـــان ، ولكن تشترك مع بكتيريا الميثان في خصائص أخرى تؤهلها لأن يطلق عليها إسم " Archaeobacteria" وهـــى البروكاريوتـــات التـــى تفتقـــر لوجـــود البيبتيدوجليكان peptidoglycan فـــى جـــدرها الخلويـــة والمحتويـــة علـــى فوسفوليبيدات phospholipids بروابط إيثيريـــة ether bonds بـــدلاً مـــن الروابط الإسترية ester bonds العادية ، هذا علاوة على خصائص أخـــرى تميز هذه المجموعة من البروكاريوتات.

32. Sulfate-reducing bacteria

هى بكتيريا سالبة لجرام ، ذات أشكال كروية مفردة وفـــى ازواج . تحصل على الطاقة اللازمة للنمو باستخدام مركبات الكبريت الغير عضـــوية لكـــن لا تســـتخدم عنصـــر الكبريـــت . تضـــم المجوعـــة جـــنس واحـــد *Archaeoglobus* الذى يلعب دوراً هاماً فى دورة الكبريت فى الطبيعة .

33. Extremely halophilic aerobic bacteria

وهذه البكتيريا تنمو فقط فى وجود الأكسجين ، تحتاج فـــى أوســـاط نموها حوالى ١٧-٢٣% كلوريد صوديوم لكى تنمو فـــى جيـــداً . تقطـــن البحيرات الملحية كالبحر الميت ، والملاحات التى تنـــتج الملـــح بـــالتبخير الشمسى لماء البحر ، والأسماك المملحة حيث تسبب فسادها . مســـتعمراتها ذات ألوان حمراء إلى برتقالية بسبب وجود مـــواد كاروتينيـــة carotinoids التى يبدو أنها تحمى الخلية من ضوء الشمس الشديد الذى تتعرض لـــه فـــى أوساط نموها الطبيعية . تقاوم الجفاف فى تركيزات كلوريد الصوديوم العالية بمحافظتها على وجود ضغط أسموزى عالى بداخل الخليـــة مـــن كلوريـــد البوتاسيوم ، والغشاء السيتوبلازمى لهذه المجموعة ثابت فقط فـــى وجـــود

التركيزات العالية من كلوريد البوتاسيوم ، كما أن إنزيماتها نشطة فقط فـي وجود التركيزات العالية من كلوريد البوتاسيوم أو الصوديوم . تضـم هـذه البكتيريا عدة أجناس منها جنس *Halobacterium* الذى تحلـل خلايـاه إذا إنخفض تركيز الملح فى وسط نموه عن ١٠ % حيث أن الوحدات المكونـة للجدار تتماسك فقط فى وجود الملح الذى ينمو فى بحيرات الصودا الملحية ، تتميز البكتيريا المحبة للملوحة بطريقة فريدة لتخليق الـATP من الضـوء بميكانيكية تشبه البكتيريا الضوئية .

34. Cell-wall less archaeobacteria

بسبب الزيادة الكبيرة فـى المكتشـفات الحديثـة مـن الأرتشـيات Archaea ، خاصة منها تلك المحبات الفائقة للحرارة hyperthermophiles التى تنمو على فوق ٨٠ °م ، فإن تقسيم هذه الكائنات لا يزال فـى مرحلـة التطـور. وفـى الوقـت الحـالى ، فـإن المملكتـين Crenarchaeota ، Euryarchaeota والممثلتين للفروع الرئيسية لميدان الأرتشـيات يضـمان حوالى ١٠٠ مائة نوع تم تصنيفهم فى ٤٠ جنس جرى تنسيقهم فى عشـرة رتب بالمملكتين 3 Crenarchaeal & 7 euryarchaeal orders

وتعتبر مملكة الـ Crenarchaeota مجموعة متجانسة جنسـياً مـن الكائنات وذلك من الناحيتين الفسيولوجية والإيكولوجية حيث تضم الأرتشيات فائقة المحبة للحرارة العالية والمعتمدة على الكبريت Hyperthermophilic sulfur-dependent archaea وتحصل على طاقتها إما من إختزال الكبريت (Thermoproteales, Pyrodictiales) أو مـن أكسـدة الكبريـت (Sulfolodales). ويقتصر توزيع مجموعة الـ Crenarchaeotes علـى الأماكن البركانية التحجرية أو الترابية ، ومن ثم تعتبر هذه المجموعة طرازاً بيئياً سلفياً للأرتشيات Archaie ancestral ecotype. ومن الناحية الأخرى ،

تضم مملكة الـ Euryarchaeota طرزا بيئية عديدة متنوعة موائمـة علـى نحو جزئى للأوساط البيئية الحديثة ، ومن ثم تظهر تنوعاً ايكولوجيا أوسع ، وهى ذات الخاصية التى أشتقت منها تسميتها.

35. Extremely thermophilic and hyperthermophilic sulfur metabolizers

هى مجموعة من البكتيريا تتميز بأن درجات الحرارة المثلى لنموها تكون فوق ١٠٠°م ، تحصل على الطاقة من المركبـات المحتويـة علـى الكبريت ، سالبة لجرام . تشمل عدة أجناس منها جنس *Pyrodicitum* الذى يتميز بأعلى درجة حرارة مثلى للنمو بين البكتيريا هـى ١٠٥°م ، وجـنس *Sulfolobus* الذى يقطن البراكين ويمكنه تثبيت CO_2 الهواء الجـوى إلـى مركبات كربونية .

الفصل الحادى عشر :
ميكروبيولوجيا الهواء

ميكروبيولوجيا الهواء

Air Microbiology

يتكون الهواء الجوى من خليط ما الغازات بنسب مختلفة منها حوالى ٧٨% نيتروجين ، ٢١% أكسجين ، ٠,٠٣% ثانى أكسيد الكربون وكميات متفاوته من بخار الماء والغازات النادرة والمواد الصلبة العالقة وحبوب اللقاح والميكروبات . وتحت الظروف العادية فإن أغلب هذه الميكروبات رمية منها خلايا خضرية وجراثيم .

وقد تصل الميكروبات إلى الهواء فى حالة عالقة بحبيبات الأتربة التى تنقلها الرياح من سطح التربة إلى الهواء أو قد تصل الميكروبات إلى الهواء فى رذاذ العطس أو السعال أو نرات وحبيبات ناتجة من ظروف خاصة بالمكان مثل مناطق زراعية تستعمل الرى بالرش بمياه المجارى أو من مخلفات السلخانات . ويلاحظ أن الميكروبات التى تأتى من التربة أغلبها مترمم بينما تلك التى تأتى من العطس والسعال أو من ظروف خاصة فقد تحمل ميكروبات ممرضة وخاصة فى المناطق المزدحمة رديئة التهوية .

وتختلف أنواع الميكروبات الموجودة بالهواء بإختلاف المنطقة وظروفها وتحت الظروف العادية أى فى المناطق السكنية ذات الجو النظيف وحتى إرتفاع ٢٠٠ متر من سطح البحر فإن الأنواع الميكروبية التى تتواجد باستمرار ومصدرها الرئيسى التربة هى الخمائر وجراثيم الفطريات مثل *Aspergillus spp* ، *Penicillium spp* والبكتيريا العصوية الهوائية المتجرثمة *Bacillus spp* والبكتيريا الكروية المفرزة للصبغات مثل *Micrococcus spp* ، *Sporosarcina spp* وتعتبر *B. subtilis* من أكثر الميكروبات إنتشاراً بالهواء لأنها شائعة بالتربة ومتجرثمة وجراثيمها شديدة المقاومة للظروف السيئة خاصة الجفاف والحرارة .

وتختلف أعداد الميكروبات كثيراً حسب الظروف المحيطة وكمية الأتربة العالقة بالهواء ، فهواء المناطق المزدحمة غير النظيفة يحتوى على أعداد أكبر من الميكروبات عن تلك الموجودة بالأماكن غير المزدحمة النظيفة ، كما أن المناطق المفتوحة تحتوى على أعداد ميكروبات أقل بكثير من الأماكن المغلقة والتى قد تحتوى أيضاً على ميكروبات ممرضة ، ويحتوى الهواء القريب من سطح الأرض على أعداد أكبر بكثير مما يوجد فى طبقات الجو العليا كما أن هواء المناطق المتربة به أعداد أكبر مما هو موجود بالمناطق غير المتربة .

من البكتيريا الممرضة كثيرة الإنتقال بالهواء هى B-haemolytic *Streptococci* وهى التى تسبب إلتهابات اللوز والبلعوم والحمى القرمزية كما يوجد بكثرة أيضاً البكتيريا العنقودية *Staphylococcus* التى تلوث الجروح والحروق . ومن الأمراض البكتيرية الأخرى الشائعة الإنتقال عن طريق الهواء مرض الدفتريا والذى يسببه بكتيريا *Mycobaterium diphtheria* والسل أو الدرن والذى يسببه بكتيريا *Mycobacterium tuberculosis* بالإضافة إلى الإلتهابات الرئوية ، ومن الأمراض الفيروسية نزلات البرد والإنفلونزا والذى يسببه بالإضافة إلى بعض الأمراض الأخرى مثل الجدرى الغدة النكفية والحصبة.

ويمكن التخلص من كثير من الميكروبات الموجودة بالأماكن المغلقة بالتهوية الجيدة أو التعرض لأشعة الشمس أو الغسيل أو الترشيح أو إستعمال الإيروسولات أو إستعمال الأشعة الفوق بنفسجية أو غيرها من الطرق المناسبة . ففى أجهزة التكييف مثلاً يمكن تنظيف الهواء لنحصل على هواء نظيف خالى من الأتربة dust free air وكثيراً ما تستخدم الآن الأشعة فوق البنفسجية فى المعامل والمستشفيات ومصانع الأدوية ومصانع التصنيع الغذائى لقتل الميكروبات الموجودة بهواء الحجرات أو الراسبة على أسطح المواد المختلفة بالحجرة ويراعى العاملون عند إستعمال الأشعة فوق البنفسجية عدم التعرض لها لأكثر من عدة دقائق فى اليوم تجنباً لحدوث حروق بالوجه أو أضرار بالعين .

الفصل الثانى عشر :

ميكروبيولوجيا المياه

ميكروبيولوجيا المياه

Water Microbiology

يهتم علم ميكروبيولوجيا المياه بدراسة الأنواع المختلفة من الأحياء الدقيقة وأعدادها وما تقوم به من أنشطة في المياه الطبيعية العذبة والمالحة ويشمل ذلك مياه الينابيع والبحيرات والأنهار والبحار . وتعتبر بعض هذه الكائنات الحية الدقيقة التى لا ترى بالعين المجردة الموجودة بالمياه كائنات متوطنة بهذه الأوساط والبعض الآخر يعتبر منقولاً إليها حيث يصل إلى المياه من الهواء والأمطار الساقطة والتربة والمزارع والمنازل والمصانع وتتعلق ميكروبيولوجيا المياه أيضاً بدراسة النواحى الميكروبيولوجية الخاصة بمياه الشرب ومياه مخلفات المصانع والمنازل وما يلزم لمياه الشرب من تنقية والمحافظة عليها من التلوث خاصة من مياه مخلفات المجارى Sewage pollution التى يجب أن تعالج بطرق مناسبة قبل الإستفادة منها حفاظاً على الصحة العامة . ويمكن تقسيم المياه الطبيعية إلى مياه جوية ومياه سطحية ومياه مخزنة ومياه جوفية وتحتوى كل مرحلة من هذه المراحل على أنواع متعددة من الكائنات الحية الدقيقة التى تتواءم مع ظروف كل مرحلة .

١- المياه الجوية Atmospheric water

تشمل هذه المياه الأمطار والثلوج وهذه المياه فى بداية سقوطها من السحب تكون خالية من الميكروبات تماماً حيث أن بخار الماء المكون للسحب يكون خالياً من الميكروبات ولكن بنزول تلك المياه ومرورها بطبقات الجو فإنها تتلوث بالميكروبات الموجودة بذرات الأتربة العالقة بالهواء وبعد فترة قصيرة من نزول الأمطار فإن الجو يصبح رائقاً خالياً تقريباً من

الميكروبات بسبب ما يحدث له من غسيل وترسيب لجزيئات التراب والمواد العالقة وما تحمله من ميكروبات .

٢- المياه المخزنة **Stored water**

يؤدى تخزين المياه كما يحدث فى البرك والبحيرات والخزانات إلى تقليل أعداد الكائنات الدقيقة بها ، وذلك نتيجة الترسيب ونشاط الأحياء الأخرى التى تتغذى على الكائنات الحية الدقيقة وتأثير بعض العوامل الجوية كالحرارة والأشعة فوق البنفسجية الموجودة بأشعة الشمس وإذا ما وصل إلى هذه المياه المخزنة مواد عضوية من الأرض أو النباتات أو مخلفات فإن أعداد الكائنات الحية الدقيقة من بكتيريا وطحالب وفطريات وبروتوزوا يزداد بتلك المياه ويصبح لونها داكناً وبتحلل تلك المخلفات تتكون روائح كريهة ويصبح لون الماء غير مقبول وطعمه غير مستساغ . هذا علاوة على زيادة أعداد الكائنات الحية الدقيقة اللاهوائية التى تقوم بنشاط فعال فى قاع هذه المياه مما يعمل على ظهور الرائحة الكريهة .

٣- المياه الجوفية **Ground water**

تشمل المياه الجوفية مياه الينابيع والآبار وما لم يحدث تلوث من مصدر خارجى فإن المياه الجوفية تكون شبه خالية من البكتيريا والجزيئات العضوية نتيجة ترشيح المياه خلال مرورها بطبقات الأرض المختلفة التى تعمل بمثابة مرشح للمياه . وعادة كلما كانت المياه الجوفية عميقة كلما قل بها عدد الميكروبات وعند إستخراج المياه من الآبار للإستعمال فإنه يجب سحبها عن طريق أنابيب مناسبة غير منفذة محافظة على المياه من أى تلوث خارجى . وهناك آبار يحتوى ماؤها على نسب عالية من مواد معدنية أو غير معدنية تشجع على نمو ميكروبات معينة بها ، فتوجد بكتيريا الكبريت فى مياه الآبار المحتوية على نسبة مرتفعة من الكبريت وبكتيريا الحديد فى

مياه ذات نسبة الحديد العالية والبكتيريا المحبة للحرارة فى ينابيع المياه الساخنة وهذه عادة ما تكون ذاتية التغذية لأن نسبة المواد العضوية عادة تكون قليلة بمياه الينابيع الساخنة .

٤- المياه السطحية Surface water

بنزول مياه الأمطار والثلوج إلى سطح التربة يتكون ما يعرف بالمياه السطحية مثل مياه الأنهار والبحيرات والبحار وبسقوط المياه الجوية وملامستها لسطح التربة فإن تلك المياه تتلوث بدرجة كبيرة بميكروبات التربة ويتوقف مدى التلوث من حيث عدد وأنواع الميكروبات على الظروف البيولوجية والجغرافية والمناخية للتربة . فى بداية نزول الأمطار يزداد عدد الميكروبات بالتربة ولكن باستمرار هطول الأمطار فإن عدد الميكروبات يقل بالتربة . ولكن يزداد عدد الميكروبات بشكل ملحوظ فى مياه الأنهار التى تصلها المياه المحملة بالأتربة والميكروبات . هذا علاوة على المخلفات السائلة التى تلقى فى هذه المياه خاصة من مخلفات السفن والفنادق العائمة ومخلفات المجارى كما يحدث فى بعض الأماكن خاصة بالدول النامية .

أ- المياه العذبة غير الملوثة Non-polluted fresh water

فى البحيرات والأنهار الخالية من التلوث بالمخلفات قد تكون المياه شبه نقية ونسبة العناصر الغذائية بها قليلة وأعداد الميكروبات بها قليل أو محدودة تتضمن هذه أنواع من البكتيريا المترممة التى تستطيع النمو فى كميات قليلة من العناصر الغذائية بالمياه مثل أفراد تابعة لأجناس *Falvobacterium* ، *Achromobacter* ، *Micrococcus* ، *Protues* ، *Pseudomonas* ، *Bacillus* and *Spirillum* . وقد وجد أيضا بكتيريا مثل الأزوتوباكتير *Azotobacter* spp وبكتيريا النترتة Nitrifiers وإذا توفر بالقاع كميات كافية من مواد عضوية متحللة تنمو البكتيريا اللاهوائية مثل

بكتيريا *Clostridium* spp الكلوستريديم وبعض البكتيريا الأخرى اللاهوائية والإختيارية والحتمية مثل البكتيريا المختزلة للكبريت مثل *Desulfovibrio* .

ب- المياه العذبة الملوثة Polluted fresh water

المياه العذبة الملوثة بمخلفات المجارى تشكل وسطاً مناسباً لنمو كثير من الميكروبات وتصل أعدادها إلى آلاف الخلايا لكل ١ سم^3 من هذه المياه. وفى هذه المياه نتوقع وجود البكتيريا المعوية مثل *Clostridium* ، *Streptococcus* ، *E. coli* وذلك بالإضافة إلى أنواع عديدة من بكتيريا التربة المترممة مثل *Vibrio* ، *Spirillum* ، *Micrococcus* ، *Bacillus* والكثير من الأكتينوميستات والخمائر والفطريات والبكتيريا الشبيهة بالطحالب والبروتوزوا والفيروسات المعوية . وفى طين قاع المياه الملوثة فإن جهد الأكسدة والإختزال يكون منخفضاً وتنمو أنواع من البكتيريا اللاهوائية مثل *Clostridium* و *Desulfovibrio* .

تنقية مياه الشرب Purification of drinking water

يجب تنقية الماء حتى يصبح صالحاً للإستهلاك الآدمى وقد تم ذلك باستخدام الخطوات التالية :

١- تجنب التلوث بمياه المجارى Avoiding of sewage pollution

يعتبر تلوث مياه الشرب بمياه المجارى أهم وأخطر مصادر التلوث فهو الطريق الوحيد من الناحية العملية التى تصل عن طريقها الميكروبات الممرضة إلى مياه الشرب وينتج ذلك من مرور مصادر مياه الشرب بجوار مصدر مجارى فترشح مياه المجارى إلى قنوات المياه أو ينتج التلوث من صرف مخلفات المجارى فى نهر أو مصدر لمياه الشرب . لذلك فإنه يلزم معالجة مياه المجارى أو التخلص منها بالطرق الصحية علماً بأن مياه المجارى بالمدن تجمع فى مواسير مقفلة بعيدة عن مواسير مياه الشرب حتى

لا تتسرب إليها ميكروبات مياه المجارى ثم يجرى التخلص منها وبذلك يعتبر إزالة مصدر التلوث والوقاية من التلوث بمياه المجارى بداية الخطوات التى تتبع فى تنقية مصدر المياه حتى تكون صالحة للشرب والإستخدام الآدمى .

٢- الترسيب Sedimentation

عند ترك المياه ساكنة لمدة من الزمن فى خزانات أو أحواض فإنه يرسب ما بها من مواد عالقة وما بها من ميكروبات إلى القاع ولزيادة سرعة الترسيب تضاف الشبة (كبريتات الألمونيوم والبوتاسيوم) أو أملاح الحديد (كبريتات الحديديك) إلى الماء لزيادة سرعة تجميع الحبيبات وتكوين معلق يرسب سريعاً حاملاً معه الأحياء الدقيقة والأجسام العالقة . وعملية الترسيب تقلل من المحتوى الميكروبى للمياه ولكنها لا تعتبر بمفردها كافية لتنقية المياه تنقية تامة مما بها من ميكروبات ، ولذلك فهى تعتبر خطوة أولى فى عملية التنقية .

٣- الترشيح Filtration

يتم ذلك بإمرار الماء على طبقات متعاقبة من الحجارة والحصى والرمل الخشن والرمل الناعم وبذلك تحجز هذه الطبقات خاصة طبقة الرمل الناعم معظم المواد العالقة ومعظم الميكروبات من المرور . وعندما يستمر تشغيل المرشح تتكون طبقة جيلاتينية بين حبيبات الرمل الناعم فتزيد من كفاءة عملية الترشيح ولكنها فى نفس الوقت تقلل من سرعته وعند حدوث ذلك يجب تنظيف المرشح .

ويمكن أن يتم الترشيح بالطريقة البطيئة أو بالطريقة السريعة ، ففى الطريقة البطيئة تلزم مساحات كبيرة نسبيا أما الطريقة السريعة فيكون الترشيح فى عدة وحدات حتى يمكن تشغيل بعضها مع تنظيف البعض الأخر مع إضافة الشبة أو أملاح الحديديك لزيادة سرعة الترسيب وتمرر المياه المرشحة إما تلقائيا أو تحت ضغط .

والترشيح لا يعتبر الخطوة النهائية فى عملية التنقية لأنه لا يزيل كل الأحياء الدقيقة الموجودة بالمياه ، بل يتبقى بعضاً منها ، فالمرشحات الرملية التى تعمل بطريقة صحيحة تحجز حوالى ٩٠٪ من الأحياء الدقيقة وتحجز كذلك معظم المواد العالقة وهذا يسهل إجراء التنقية النهائية للماء للتخلص مما بقى به من الأحياء الدقيقة .

الكلورة Chlorination

تعتبر هذه الخطوة غالباً آخر عمليات تنقية المياه وفيها يضاف الكلور أو أحد مركباته إلى المياه لتطهيرها ، وعند إضافة الكلور إلى الماء يحدث التفاعل الآتى :



$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl \text{ (Hypochlorous acid)}$$
$$HOCl \longrightarrow HCl + O \text{ (Nascent oxygen)}$$

وبذلك ينتج أكسجين نشط حديث التولد يكون قادراً على قتل الكائنات الحية الدقيقة عن طريق أكسدة محتوياتها وهذا بالإضافة إلى أن للكلور تأثير قاتل عن طريق إتحاده المباشر ببروتين الخلية . وتتوقف كمية الكلور أو أحد مركباته التى تضاف إلى الماء على عوامل عديدة منها تركيز الكلور ومدة التأثير، عدد انواع الأحياء الدقيقة الموجودة بالماء ، كمية المادة العضوية خاصة البروتينية الموجودة بالماء حيث يتحد الكلور بالمواد العضوية فيقل تركيزه وتضعف فاعليته ، هذا بالإضافة إلى درجة الـpH ودرجة الحرارة فتزيد سرعة تفكك الكلور فى الوسط الحامضى وفى الحرارة العالية فيقل تأثيره .

وفى أغلب الأحوال يستعمل غاز الكلور المضغوط لتنقية مياه الشرب مع إستعمال أجهزة خاصة لإضافته وذلك لضبط الكمية المضافة إلى الماء . ولتنقية المياه تضاف كمية كافية من الكلور تكفى لتنقية المياه ويتبقى بعد ٢٠ دقيقة من إضافته ٠,٢ إلى ٢,٠ مجم/لتر (جزء/مليون) على الأقل من الكلور

الفعال المتبقى Residual chlorine فوجود هذه النسبة يدل علـى أن كميـة الكلور المضافة كانت كافية لقتل الميكروبات الحساسة مع تبقى جـزء منـه كإحتياط وقائى ضد إحتمالات التلوث الأخرى . وتزداد النسبة المضافة مـن الكلور إذا زاد عدد الميكروبات بالماء أو إحتواء الماء على مواد عضوية أو مواد قابلة للأكسدة وأيضاً حسب الظروف الصحية السائدة . هذا وبعد معالجة المياه بالكلور توزع هذه المياه على المستهلكين بواسطة مواسير مقفلة بعيدة عن مياه المجارى حتى ى تتسرب إليها الميكروبات وتتلوث مرة أخرى.

٤- الفلورة Flurination

تهتم بعض الدول بإضافة الفلور إلى ماء الشرب قبل توزيعه علـى المستهلكين وتسمى هذه العملية بالفلورة لما لذلك من تأثير على تقليل نسـبة تسوس الأسنان وتآكلها خاصة فى الأطفال الصغار الذين مازالت أسنانهم فى مرحلة التكوين . ويضـاف الفـور فـى صـورة فلوريـد الصـوديوم أو سـيليكوفلوريد الصـوديوم أو الأمونيـوم ليعطـى فلـور متبقـى Residual fluorine قدره ١ جزء / مليون وهى نسبة كافية لإيقاف التسوس بأسنان الأطفال وتأثير أيون الفور على منع التسويس غير معروف بالضبط وقد يعود إلى إتحاده المباشر مع الأسنان نفسها أو إلى تداخله مع إنزيمـات البكتيريا المنتجة للأحماض الموجودة بالفم وهى المسـببة للتسـويس وهـى بكتيريا *Streptococcus mutans* .

وقد تتضمن عملية تنقية المياه أيضاً بعض العلميات الأخـرى مثـل إزالة أملاح معادن الكالسيوم والماغنسيوم المسببة لعسـر المـاء بترسـيبها بإضافة الجير وضبط الرقم الأيـدروجينى (pH) إذا كانـت الميـاه شـديدة الحموضة أو القوية وإزالة الألوان والطعم غير المرغوب فيه . علاوة على هذا فهناك بعض الطرق الأخرى المستعملة فى تنقية المياه علـى المسـتوى

الضيق مثل الغليان حيث أن غليان الماء لمدة ١٠دقائق يكون كافياً لقتل الميكروبات الممرضة غير المتجرثمة والخلايا الخضرية الموجودة بالماء . وقد تستخدم الأشعة فوق البنفسجية لمعالجة المياه المعبأة فى زجاجات لأنها لا تعطى لها أى طعم وهذه الطريقة مجدية فى المياه الخالية من المواد العضوية والمحتوية على عدد قليل من الميكروبات .

صلاحية المياه للإستعمال الأدمى

قد نحكم على صلاحية المياه للإستعمال الأدمى بعد أن نجرى عليها مجموعة من الإختبارات الطبيعية والكيماوية والميكروبيولوجية وتجرى هذه الإختبارات بشكل دورى لمتابعة الظروف الصحية لمياه الشرب.

وتشمل الإختبارات الطبيعية إختبار الطعم ، اللون ، الرائحة واللزوجة . وتشمل الإختبارات الكيمائية تحليل المياه كيميائياً للوقوف على تركيزات العناصر والأيونات المختلفة وكذلك المعادن الثقيلة والتى تؤثر فى تركيزاتها العالية على صحة الإنسان والحيوان وكذلك النبات .وليس هنا مجال لدراسة الإختبارات المختلفة إلا إجراء الإختبارات الميكروبيولوجية .

الفحص الميكروبيولوجى Microbiological examination

يحدث تلوث المياه نتيجة لإلقاء المخلفات فيها فعند دخول المخلفات العضوية إلى مصدر مائى ، فإنها تتعرض للتحلل الميكروبى مما يؤدى إلى سرعة نفاذ الكميات المحدودة من الأكسجين الموجود بتلك المصادر المائية . وقد يتسبب هذا فى تكوين وسط خالى من كل أنواع الكائنات الحية الدقيقة وهذا يسبب تغيرات جوهرية وضارة فى أنواع وأعداد ونشاط الميكروبات الموجودة فيما عدا الأنواع اللاهوائية والتى يستدل عليها من وجود أسماك ميتة وتدهور فى الحياة النباتية والروائح الكريهة الناتجة من نشاط الميكروبات اللاهوائية . وكذلك يظهر تلوث المياه فى وجود حالات تيفود

وبائى Epidemic typhoid بين المستهلكين لهذه المياه . هذا ويعتبر وجود الحمى التيفودية Typhoid fever والدوسنتاريا Dysentry دليل قاطع على تلوث المصادر المائية بالمخلفات البرازية المسببة لإنتشار الأمراض . لهذا فإن المياه المستخدمة للشرب أو لأغراض التصنيع الغذائى يجب أن تكون مطابقة للمتطلبات القياسية للصحة العامة عند إختبارها بالطرق الموصى بها Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater ولذلك فإن من الإهتمامات الخاصة لمصانع تعليب الأغذية هو ميكروبيولوجيا المياه Water Microbiology حيث يتم الإهتمام بتبريد المعلبات بعد معاملتها حرارياً . ذلك أن المياه المستخدمة إذا إحتوت على ميكروب قادر على إحداث فساد للأغذية فسوف يكون هذا خلال فترات التخزين سواء فى المخازن أو المحلات البيع نتيجة زيادة أعداد الميكروبات الموجودة بالمياه المستخدمة فى تجهيز هذه المعلبات .

وهناك عدد من القائمين بتعليب الأغذية يقومون بإضافة كلوز إلى الماء البارد لتقليل عدد الميكروبات والحد منها والبعض يستخدم ثانى أكسيد الكلورين أو أى مطهر آخر .

ولكى نتمكن من مراقبة الإستخدام السليم للمياه فإنه يجب أن تكون لدينا طرق ووسائل للكشف عن التلوث وقياسه . فعلى سبيل المثال فإن المياه التى تحتوى على أجناس *Pseudomonas* , *Achromobacter* and *Alcaligenes* تكون غير صالحة للإستخدام بدون معاملة وذلك فى أغراض منتجات الألبان مثل عما الزبد أو الجبن . وكذلك يعتبر النمو اللزج لبكتيريا الحديد فى إمدادات ومواسير المياه تؤدى إلى مشاكل فى إستخدام هذه المياه فى التصنيع الغذائى . هذا وتقدر جودة المياه بدرجة كبيرة بالتحليل البكتريولوجى والهدف الأساسى من هذا التحليل هو معرفة ما إذا كانت

المصادر المائية تحتوى على ميكروبات برازية Fecal organism ولكن ليس بالضرورى أن تكون مرضية حيث يؤخذ وجود هذه الميكروبات البرازية كدليل على تلوث المياه بالمخلفات الآدمية أو الحيوانية . وبصفة عامة فإنه يتم البحث عن بكتيريا القولون Coliform bacteria أو مجموعة Coli-aerogenes والتى تشمل كل الميكروبات الهوائية الإختبارية والتى تتميز بأنها عصويات مستقيمة سالبة لجرام غير متجرثمة تخمر سكر اللاكتوز مع إنتاج غاز . ويشمل الفحص البكتريولوجى للمياه الإختبارات البكتريولوجية القياسية والخاصة بمياه الشرب Bacteriological stand point بعد إجراء عملية العد الكلى للميكروبات بها . ولإجراء مثل هذه الإختبارات تؤخذ عينات ممثلة Representative samples للمياه المراد فحصها تحت ظروف التعقيم وتحلل ميكروبيولوجيا كالآتى :

١ – تقدير عدد البكتيريا الكلى Determination of total bacterial count

تعتبر المقاييس الأمريكية أن الماء صالحاً للشرب إذا إحتوى على عدد كلى من البكتيريا أقل من ١٠٠ ميكروب / مل مقدره بطريقة الأطباق على بيئة الأجار المحضن على ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة . ويختلف العدد الناتج بطبيعة الحال بإختلاف طريقة أخذ العينة وطريقة التقدير ونوع البيئة ودرجة حرارة التحضين . وبالنسبة للمياه المعدنية فيجب ألا يزيد عدد البكتيريا الكلى عن٣٠ خلية / مل ولقد وجد أن العدد الكلى للبكتيريا طريقة غير صحيحة للحكم على صلاحية الماء للشرب لأن المياه قد تحتوى على عدد قليل من الميكروبات ولكن من بينها ميكروبات ممرضة أو قد تحتوى على عدد كبير من الميكروبات لوجود مواد عضوية أو معدنية بكثرة دون أن يكون بها ميكروبات ممرضة . وتفيد هذه الطريقة عند إجراء مقارنة بين أعداد الميكروبات قبل وبعد إجراء معاملة من معاملات تنقية المياه .

يعتبر هذا التقدير هام جداً حيث يعطى صورة واضحة عن مدى تلوث المصدر المائى بغض النظر عن نوعيات الميكروبات الموجودة . حيث يستخدم فيها بيئة غذائية عامة تسمح بنمو أغلب الكائنات الحية الدقيقة الموجودة فى العينة موضع الدراسة . وبعد إجراء عملية العد الكلى يتم إجراء دراسة تحليلية دقيقة ومتخصصة للعينات كما يلى فيما بعد .

٢- الكشف عن الميكروبات الممرضة :

ينطوى هذا الكشف تحت ما يسمى بالتحليل القياسى للمياه Standard analysis والكشف عن الميكروبات الممرضة الموجودة بالماء أمر بالغ الصعوبة لأن هذه الميكروبات قد توجد بأعداد قليلة مما يجعل من الصعب عزلها فى مزارع نقية متخصصة . كما أنه ليس من السهل تمييزها بالشكل الخارجى عن الميكروبات الأخرى غير الممرضة . فإذا ما أريد الكشف عنها وتميزها عن غيرها فإن ذلك يتطلب عملاً ومجهوداً كبيراً ووقتاً طويلاً قد يحدث أثناءه خطر تلوث القائم بالعمل ، وبالرغم من ذلك فقد لا يتوصل إلى نتائج مقبولة بطريقة غير مباشرة .

ونظراً لأن أهم الأمراض التى تنتقل عن طريق المياه هى التيفود *Salmonella typhi* والباراتيفود *Salmonella paratyphi* والكوليرا *Vibrio cholera* والدوسنتاريا *Shigella dysentariae* والفيروسات المعوية وهى كلها تتسبب عن ميكروبات معوية تأتى من مخلفات آدمية وحيوانية لذلك فإن وجود مياه مجارى فى مياه الشرب يدل على أن هذه المياه من المحتمل أن تحتوى على واحد أو أكثر من الميكروبات الممرضة سابقة الذكر. ومن المعروف أن أمعاء الإنسان والحيوانات ذات الدم الحار تحتوى على أعداد كبيرة من الميكروبات أغلبها من النوع غير الضار ومن هذه الميكروبات *Escherichia coli* و *Enterobacter aerogenes* الذى يوجد بكثرة فى

المخلفات الآدمية والحيوانية . وعلى ذلك فإن وجود ميكروب *E. coli* فى ماء الشرب يؤخذ كدليل حيــوى Indicator organism أو Bioindicator علـــى تلوث هذه المياه بمياه المجارى إذ تعتبر هذه الميكروبـــات كاشــفات للتلــوث ويعنى هذا أن المياه التى يوجد بها كاشفات التلوث مثــل *E. coli* يحتمــل أن يوجد بها ميكروبات ممرضة معوية مثل تلك المسببة لشلل الأطفال .

تنتمى بكتيريا *E. coli* إلى ما يسمى بمجموعـــة بكتيريـــا القولـــون Coliform group وقد تسمى هذه المجموعة أيضا باســـم Colon group أو Coli-aerogenes group وتتصف أفراد هذه المجموعـــة بأنهـــا عصـــوية قصيرة سالبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، متحركة ، لاهوائية إختيارية ، تحلل سكر اللاكتوز ببيئة بويون اللاكتوز وتنتج حامض وغاز . والأســـباب التى دعت لإختيار *E. coli* كدليل حيوى للكشف عن التلوث هى أن الكشف عن بكتيريا *E. coli* ميسر بالإضافة إلى أن هذه البكتيريا من السهل تـــداولها فهى غير ممرضة ولا تضر بالقائمين بالعمل ومصدرها مخلفات أدميـــة أو حيوانية وتوجد دائماً بالمياه الملوثة ، مادامت البكتيريا الممرضـــة موجـــودة بها، وتعيش بالمياه لمدة أطول من الميكروبات الممرضة أما الميـــاه غيـــر الملوثة فخالية من بكتيريا *E. coli* . ونظراً لأن بكتيريا *E. coli* مصـــدرها برازى Fecal ، بينما يوجد أفراد أخرى من بكتيريا القولون مصدرها غير برازى Non-fecal وقادرة أيضاً على تحليل سكر اللاكتوز إلـــى حـــامض وغاز مثل بكتيريا *Enterobacter aerogenes* التى توجد علـــى النباتـــات والحبوب وفى التربة ومثل بكتيريا *Klebsiella* التى مصدرها القناة التنفسية لذلك فإنه بعد الكشف عن مجموعة بكتيريا القولون بالمياه فإنه يجب التمييز بين الميكروبات المحللة لسكر اللاكتوز البرازية وغير البرازية حتى يتسنى

الحكم بدقة على تلوث مياه الشرب بمياه المجارى، أما باقى البكتيريا المعوية مثل *Shigilla* ، *Salmonella* ، *Proteus* فهى غير محللة لسكر اللاكتوز .

يجرى هذا التحليل القياسى للكشف عن وجـــود بكتيريـــا القولـــون Indicator organisms كدليل على تلوث المياه بميـــاه المجـــارى Sewage ويتكون هذا النظام من ثلاثة إختبارات متتالية كالآتى :

١- الإختبار الإحتمالى Presumptive test

يتم تلقيح العينة تحت الدراسة فى بيئة بويـــون اللاكتـــوز لإختبـــار التخمر أو بيئة ماكونكى السائلة وبعد فترة التحضين يتم الكشف عن وجـــود حمض وغاز كنواتج لتحليل سكر اللاكتوز . وبعد فترة التحضـــين تفحـــص العينات فإذا تكون غاز ١٠ أو أكثر من حجم أنبوبة درهام فى ظـــرف ٢٤ ساعة فإن الإختبار يكون موجب دالاً على أن العينة ملوثة وغيـــر صـــالحة للإستخدام الآدمى . أما إذا تكون الغاز بعد ٢٤ ساعة أخـــرى فـــإن نتيجـــة الإختبار تكون مشكوكاً فيه ولذلك تجرى باقى إختبارات التحليل . أما عـــدم وجود غاز بعد ٤٨ ساعة فيؤخذ ذلك دليلاً على أن الماء غير ملوث وصالح للإستهلاك الآدمى وفى هذه الحالة لا داعى لإجراء باقى الإختبارات .

٢- الإختبار التحقيقى Confirmed test

فى حالة النتيجة المشكوك فيهـــا Doubtful presumptive test أى ظهور كمية غاز بعد ٤٨ ساعة تحضن على ٣٧°م ، تؤخذ العينات ويجرى لها الإختبار التحقيقى (التأكيدى) . يستخدم فى هذا الإختبار بيئـــة (EMB) Eosine methylene blue agar أو بيئة Endo agar حيث هذه البيئات مـــن المعاملات التى أعطت نتيجة مشكوك فيها والناتجة من الإختبـــار الســـابق . وبعد فترة التحضين تظهر مستعمرات ذات مركز أســـود ولمعـــان معـــدنى مخضر Brown colonies with metallic sheen هى مستعمرات ميكروب

Escherichia coli بينما إذا ظهرت مستعمرات بنية المركز وبدون اللمعان المعدنى وهى *Enterobacter aerogenes* .

٣- الإختبار التكميلى Completed test

يجرى هذا الإختبار عادة للتأكد من أن المستعمرات التى ظهرت على أطباق EMB أو بيئة Endo agar فى الإختبار السابق تتبع مجموعة القولون Typical colonies ويشمل هذا الإختبار الآتى :

أ) أن الميكروب المعزول من الإختبار الإحتمالى الإجابى يستطيع أن يخمر سكر اللاكتوز ثانياً .

ب) المستعمرات النامية على بيئتى EMB ، Endo agar والتى تظهر تحت الميكروسكوب عند فحصها بصبغة جرام خلايا عصوية قصيرة سالبة لجرام غير متجرثمة وتابعة لمجموعة القولون .

ج) تحليل المياه بالمرشحات الغشائية Analysis of water by membrane filter technique .

تستعمل المرشحات الغشائية لحجز البكتيريا من الماء ، ثم تنمى البكتيريا المحجوزة مباشرة على المرشح بوضعه على بيئة مناسبة . ومن خلال إستعمال بيئة إنتقائية معينة فإنه يمكن تقدير أعداد بكتيريا القولون Fecal Coliform (FC) . وكذلك يُمكن عزل الميكروبات الأخرى مباشرة مثل ميكروبات *Salmonella* , Fecal Streptococci (FS) وغيرها حتى إذا تواجدت بأعداد قليلة .

حيث ترشح كمية معلومة من المياه تحت الدراسة خلال غشاء دقيق حاجز للبكتيريا Bacteria - rataining membrane سعة ثقوبة ٠,٤٥ ميكرومتر . بعد ذلك ينتقل الغشاء وُيوضع على وسادة رقيقة مشبعة بالبيئة المناسبة والمتخصصة للميكروب المراد الكشف عنه . تستخدم بيئة

Modified enterococcus-agar medium لعــزل الميكروبـــات الســبحية البرازية FS ولعزل بكتيريا القولون البرازية FC تستخدم Modified fecal coliform medium .

التقييم Evaluation

وجود بكتيريا القولون البرازية FC فى المياه دليلاً على وجود مخلفات برازية حديثة . كذلك توجد البكتيريا السبحية البرازية FS فى أمعاء الحيوانات بأعداد أكبر من أمعاء الإنسان لذلك فإن إستعمال نسبة FC/FS ratio يعتبــر هام جداً فى تقدير إحتمال كون التلوث البرازى من مصدر حيوانى أو أدمى . إذا كانت النسبة FC/FS أكبر من ٠,٤ كان ذلك دليلاً قوياً على حدوث تلــوث مصدره المخلفات الأدمية . وإذا كانت النسبة ٠,٧ دل ذلك علـــى أن التلـــوث مصدره الأساسى من مخلفات حيوانية أو مخلفات دواجن. أمـــا إذا تراوحـــت النسبة بين ٢ إلى ٤ دل ذلك على سيادة المخلفات الأدمية فى التلوث . وهـــذه البكتيريا التى تعتبر دليل وجود البكتيريا الممرضـــية Indicator organisms حيث أن وجودها فى المياه دائماً ما دامت البكتيريا المرضية موجودة وبأعداد ترتبط بدرجة مباشرة بدرجة التلوث وكذلك يجب أن تكون قادرة على البقـــاء حية فى المياه لمدة أطول من الميكروبات المرضية وأن تختفى بســـرعة بعـــد إختفاء الميكروبات المرضية وأن تكون غير ضارة للقائمين بالعمل علاوة على أن تكون تقديرها الكمى سهل دون تداخل لميكروبات أخـــرى . وهنـــا تفـــى بكتيريا القولون بأغلب هذه الإحتياجات .

الفصل الثالث عشر :

ميكروبيولوجيا اللبن ومنتجاته

ميكروبيولوجيا اللبن ومنتجاته

Microbiology of milk and Dairy products

اللبن هو إفراز الغدة الثديية في الحيوان وهو يحتوى على جميع المواد الغذائية اللازمة للنمو ، ولذلك فهو بيئة صالحة لنمو كثير من الميكروبات فنسبة الماء القابل للاستفادة به عالية . وهو متعادل التأثير يحتوى على سكر اللاكتوز كمصدر كربوهيدراتي ومصدر بروتيني كالكازين والألبيومين والأحماض الأمينية علاوة على ما به من عناصر معدنية وفيتامينات وإنزيمات لذلك فإن اللبن عرضة لتلوث والفساد بالميكروبات . وعلى ذلك فإن منع اللبن من التلوث بالميكروبات والحد منها وإبادتها عوامل هامة في إنتاج لبن جيد الصفات ، ويتخذ عدد الميكروبات باللبن معياراً لجودته كلما زاد عدد الميكروبات كلما قلت قيمته وتحتاج الميكروبات لكل المكونات التي توجد باللبن لذا فهو يعتبر بيئة غذائية صالحة لكل الكائنات الحية الدقيقة .

المحتوى البكتيرى Bacterial content

عند إفراز اللبن من حيوان سليم يكون خاليا من الميكروبات وفي الضرع يتسرب إلى اللبن عدد من البكتريا الموجودة في قناة الحلمة Teat canal يتراوح ما بين ٥٠٠-١٠٠٠ ميكروب لكل سم^3 لبن ، وهي غير ممرضة من الأجناس التالية :

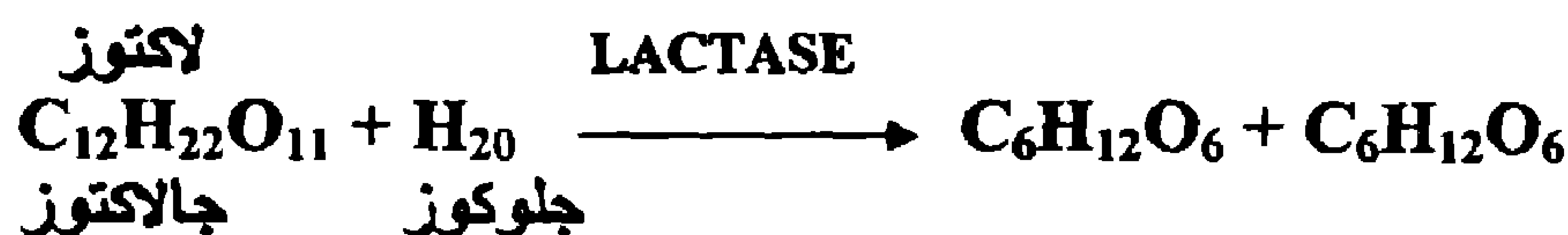
Micrococcus, Streptococcus, Corynebacterium bovis

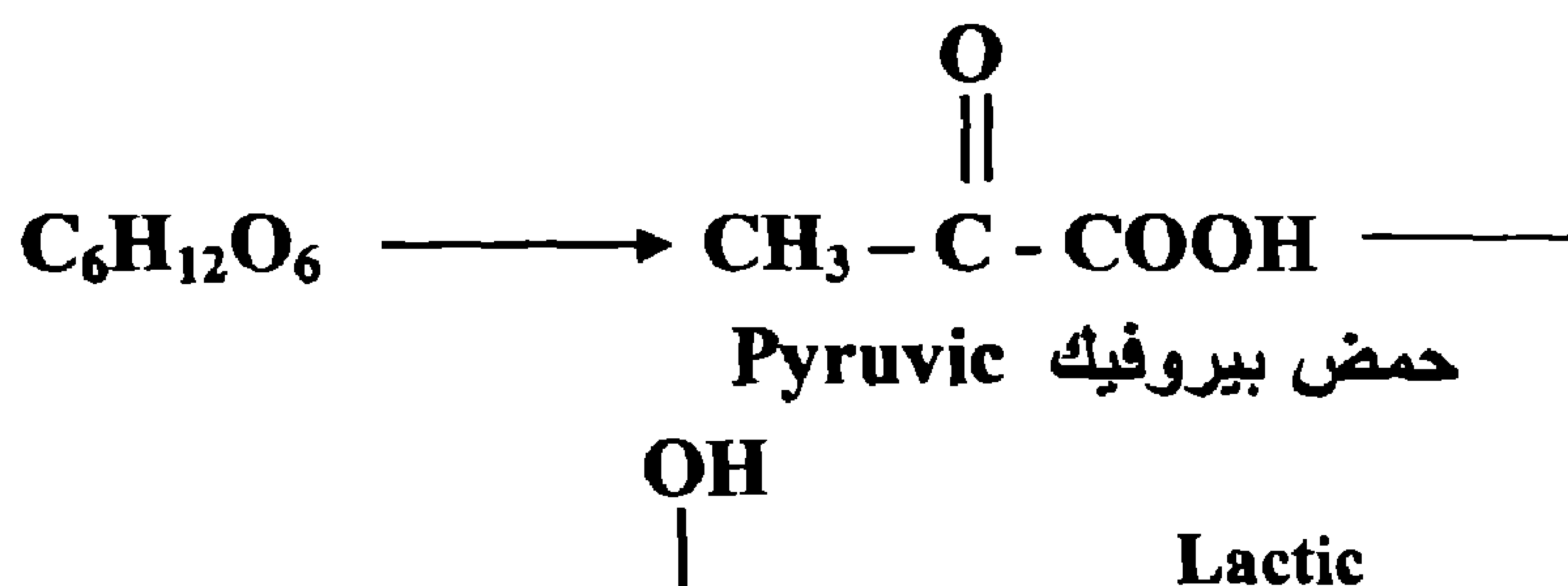
أما إذا كان الحيوان مريضاً أو مصاباً بالتهاب الضرع فإن عدد الميكروبات باللبن يزيد زيادة كبيرة وقد يحتوى على ميكروبات ممرضة . وبعد نزول اللبن من الضرع يتعرض للتلوث من مصادر عديدة منذ حلبه حتى استهلاكه بكثير من البكتريا والخمائر والفطريات غير أنه بالنسبة لمكونات الألبان وظروف تداولها فإن البكتريا هي التي يتهيأ لها ظروف

النمو والتكاثر فتسود وأهم أنواع البكتريا الموجودة باللبن هى بكتريا حمض اللاكتيك وبكتريا مجموعة القولون وبعض أنواع من جنس *Clostridium* أما البكتريا المحلة للدهون والبروتين وغيرها فتكون أقل أهمية.

أولا : بكتريا حمض اللاكتيك Lactic acid bacteria

هى مجموعة من البكتريا تتبع عائلة *Lactobacillaceae* وهى إما كروية أو عصوية ، موجبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، غير متحركة ، سالبة لاختبار الكتاليز تحتاج فى نموها لكميات قليلة من الأكسجين وتمتاز بأنها تحلل سكر اللاكتوز بواسطة التخمير اللاكتيكى وتنتج أساسا حامض لاكتيك .







أى أن سكر اللاكتوز يتحلل بواسطة انزيم Lactase إلى جلوكوز وجالاكتوز ثم تحدث عملية فسفرة السكر الاحادى حسب نظام التحلل الجليكولى ، ويتكون حمض البيروفيك كمركب وسطى وهذا يختزل إلى حمض لاكتيك بواسطة إنزيم Lactic dehydrogenase وقرين الانزيم DPN المختزل . وبكتريا حمض اللاكتيك إما أن يكون:

١-Homofermentative أى أنها تحلل أكثر من ٩٠% من سكر اللاكتوز إلى حمض لاكتيك مع إنتاج كميات ضئيلة من حمض الخليك ، ك أ٢ والمركبات الأخرى .

٢- Heterofermentative تعطى بالإضافة إلى حامض اللاكتيك المتكون كميات محسوسة من الأحماض والكحولات والغازات .

والأنواع التى تتبع القسم الأول هى التى تسود فى اللبن تحت الظروف العادية وهى تستطيع النمو ما بين ٢٠-٤٠°م وهى المسئولة عن حموضة اللبن وعن صناعة المنتجات اللبنية وتصل بكتريا حمض اللاكتيك إلى اللبن من جلد الحيوان وجو الإسطبل والأتربة والأدوات وأهم أنواعها .

١- *St. lactis* ميكروب كروى يهلك بالبسترة ويعتبر من أهم الميكروبات التى توجد فى اللبن ويسبب حموضة اللبن الخام ويستعمل فى صناعة الألبان المتخمرة كالزبادى .

٢-*St.thermophilus* ميكروب كروى لا يهلك بالبسترة ويستطيع النمو على درجة حرارة عالية ٥٣°م ولذلك فهو يستخدم فى المنتجات اللبنية التى تحتاج لدرجة حرارة عالية مثل الجبن السويسرى .

٣-*Lact. casei* عصوى يهلك بالبسترة ويوجد فى اللبن الخام وهو هام فى صناعة جبن شيدر .

٤-*Lact. bulgaricus* عصوى يهلك بالبسترة ويفضل درجة حرارة أعلى من الميكروب السابق ويستعمل فى تحضير الألبان المتخمرة كالزبادى.

ثانيا : بكتريا القولون Coliform bacteria

وأهمها *E . coli ,Enterobacter aerogenes* وهى تحلل سكر اللاكتوز وتكون أحماض مثل اللاكتيك ، خليك ، فروميك ، وغازات مثل ك أ٢ ، يد٢ بالإضافة إلى تكوين روائح غير مقبولة قذرة وطعما مرا فى اللبن

لتكون حامض الفروميك ومكروب *Enterobacter aerogenes* يكون حامضاً أقل وغازات أكثر عن ميكروب *E. coli* . ووجود هذه الميكروبات فى اللبن أو منتجاته غير مرغوب فيه وتصل هذه الميكروبات إلى اللبن عن طريق الــروث والأتربة ومواد العلف . وتوجد أيضا البكتريا الممرضة Pathogenic bacteria تحت ظروف خاصة قد تصل البكتيريا الممرضة إلى اللبن وهى تنمو بســرعة على درجة ٣٠-٤٠ ْم وبذلك يصبح اللبن مصدراً للتلوث بهذه الميكروبات مــن أمثلتها الميكروبات المسببة للحمي التيفوديــة والتســمم بالســالمونيلا والحمــى المالطية والتهابات الزور والحمى القرمزية .

ثالثا : البكتريا اللاهوائية Anaerobic bacteria

وتتمثل فى جنس *Clostridium* وهى بكتيريا متجرثمة تنتج غازات وطعم غير مرغوب فى المنتجات اللبنية وهى حسب نوعها فهى إما أن تحلل البروتينات أو تحلل السكريات الموجودة فى اللبن وفى الحالة الأخيرة فإنهــا تكون غازات بكمية كبيرة (ك أ٢ + يد٢) مسببة تخمراً عاصــفياً Stormy fermentation إذ أن الغاز المتكون يجزيء الخثرة إلــى قطــع صــغيرة ووجودها غير مرغوب فيه ومصدرها الروث والأتربة .

التغيرات البكتيرية فى اللبن Bacterial changes in milk

معظم التغيرات التى تحدث فى اللبن على درجات حــرارة مختلفــة تكون نتيجة لفعل الميكروبات فتحدث تغيرات فى اللون والطعــم والرائحــة والشكل والقوام ويمكن معرفة هذه التغيرات بالتذوق وبالرائحة وتتوقف هذه التغيرات على الظروف المحيطة باللبن حيث أن درجة الحرارة وطول المدة التى يحفظ عندها اللبن يؤثران على نوع وعدد الميكروبات الموجودة وبالتالى نوع الفساد الذى قد يحدث .

١- عند درجة الحرارة المنخفضة (٥ ْم) فإن نشاط البكتريا المنتجة للحموضة يقف ولا يستطيع النمو وبذلك تنشط البكتريا المحللة للبــروتين وكــذلك

بغلى اللبن فإن البكتريا المنتجة للأحماض تموت وتبقى جراثيم البكتريا المحللة للبروتين وبذلك يصبح المجال مفتوحاً للنمو والنشاط حتى فـــى درجات الحرارة العالية .

٢- فى درجة الحرارة التى تعلو التجمد مباشرة تنشـــط البكتريـــا المحبـــة للبرودة من الأنواع المحللة للبروتين مثل *Pseudomonas spp* مســـببة مرارة وطعم غير مقبول دون حدوث أى تغير ظاهري .

٣- إذا ارتفعت درجة الحرارة إلى ١٥م تنشط عندها بكتريا *Streptococcus lactis* والأنواع المشابهة منتجة حامضاً يسبب تجبن اللبن وفوق هـــذه الدرجة أيضا تنمو *Enterobacter spp*

٤- وعند درجة حرارة ٣٧م تنمو جيداً بكتريا القولون في حين يقف معظم أنواع Streptococcus spp عـــن النمـــو ولكـــن *Str. thermophillus* وأنواع من *Lactobacillus spp* تستطيع أن تنمو جيداً عند هذه الدرجة وفوقها وبذا تسود وتنشط .

٥- عند درجة ٤٥ – ٥٠م تسود أنواع بكتريا حامض اللاكتيك التى تستطيع النمو على درجة حرارة مرتفعة منتجة حامضاً ومسببة تجبن اللبن .

٦- عند درجة ٥٥ – ٦٠م تنمو الأنواع المحبة للحرارة المرتفعة وبالنســـبة للبكتريا المنتجة للأحماض فإنه إذا كانت الظروف ملائمة لنموها فإنهـــا تحد من البكتريا المحللة للبروتين والدهون عند درجة الحرارة العادية .

مصادر تلوث اللبن Sources of milk contamination

١- داخل الضرع Interior of udder

تستطيع البكتريا أن تنمو داخل الحلمة عن أى منطقة أخرى بالضرع وهى كلها ميكروبات غير ممرضة ويفضل التخلص من الجزء الأول عنـــد الحليب لاحتوائه على عدد أكبر من الميكروبات وإذا كان الضـــرع مصـــاباً

بالتهاب الضرع فإن عدد البكتريا باللبن يزيد كثيراً وفى هذه الحالة يحتوى اللبن على كمية كبيرة من كرات الدم البيضاء وبكتريا ممرضة للإنسان ومن البكتريا الممرضة التى تنتقل من ضرع الحيوان المصاب إلى اللبن بكتريا السل والحمى المالطية والتهاب الضرع لذلك فإن الحيوانات المريضة يجب أن تعزل عن باقى القطيع خوفاً من انتشار المرض .

٢- جلد وشعر الحيوان Skin and hides

الأتربة والروث التى على الجلد والشعر تلوث اللبن عند حلبه إذا سقطت فيه لذلك يجب حلق شعر الضرع وتنظيف الحيوان قبل الحليب ويصل من هذا الكثير من بكتيريا القولون مع احتمال التلوث بميكروبات ممرضة .

٣- جو الإسطبل Barn air

يجب تجنب العوامل المثيرة للأتربة داخل الإسطبل أثناء الحليب كما يجب إبعاد الذباب عن اللبن باستمرار حيث أنه مصدر خطير لنقل الميكروبات إلى اللبن ومنها الممرضة .

٤- الحلاب

يجب أن يكون الحلاب أو القائم على عملية الحليب سليماً صحياً وأيديه نظيفة جافة عند إجراء عملية الحلب Milking .

٥- أوانى الحليب

وهى من أهم مصادر التلوث لذلك يجب أن تكون من نوع جيد غير قابلة للصدأ نظيفة ويتضمن ذلك غسلها جيداً ومعالجتها بالمحاليل المطهرة وتجفيفها ، وإلا تصبح مصدراً خطيراً للتلوث . وكذلك فإن باقى أدوات المعمل وأوانيه وآلات الحليب يجب أن تكون نظيفة والبكتريا التى تسود فى الأوانى هى بكتيريا حمض اللاكتيك *Str. Lactis* وبكتريا القولون ، والبكتريا

المقاومة للحرارة التى تعيش بعد البسترة ، والبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة والمتجرثمة . ويتجنب مصادر التلوث السابقة أثناء عملية الحليب ، فإنه يمكن أن يخفض عدد البكتريا فى اللبن بما يزيد عن ٧٥% .

عمليات ما بعد الحلب Post milking

١- تبريد اللبن Cooling

عقب عملية الحليب يبرد اللبن مباشرة من ٤ إلى ١٠ْم لإيقاف نمو وتكاثر البكتريا الموجودة به ، درجة الحرارة هذه يجب المحافظة عليها سواء عند نقله أو أثناء التخزين فى المصنع أو فى محلات البيع أو فى المنازل لحين الاستهلاك .

٢- بسترة اللبن Pasteurization

وهى من أفضل طرق حفظ اللبن ، نظراً لأنها تحافظ على مكوناته الغذائية وخصوصاً الفيتامينات والكالسيوم ولا تؤدى إلى تغيير يذكر فى طعم ومظهر اللبن . وتتم عملية البسترة بتسخين اللبن لدرجة أقل من الغليان حيث يتم القضاء على حوالى من ٩٠ – ٩٩% من البكتريا الحية الموجودة ويتضمن ذلك القضاء على أغلب الميكروبات المفسدة وكل الميكروبات الممرضة التى من بينها ميكروب السل *Mycobacterium tuberculosis* وهو أشد الميكروبات الممرضة مقاومة للحرارة فهو يموت عند درجة ٦٠ْم لمدة ١٥ دقيقة وعلى ٦١,١ لمدة ١٠ دقائق ، ويبقى بعد البسترة بعض الميكروبات وهى غير ممرضة ولكن وجودها يدل على عدم جودة تنظيف أدوات وأوانى أجهزة الحليب ومن الميكروبات المتبقية :

1. *Thermoduric lactics as Str. thermophilus, str. faecalis L. thermophilus, L. bulgaricus*
2. *Thermoduric Micrococcus*

3. *Sporeformers as B. cereus, B. subtilis, B. coagulans, Cl. sporogenes, Cl. butyricum*

وللبسترة طريقتان الأولى الطريقة البطيئة وفيها يعامل اللبن على درجة ٦١,٧م لمدة ١/٢ ساعة أما الطريقة السريعة يعامل فيها اللبن على درجة ٧١,٧م لمدة ١٥ ثانية أو على درجة حرارة ٨٨,٤م لمدة ثانية واحدة. والبسترة تطيل مدة حفظ اللبن ، إذا ما حفظ اللبن النظيف بعد بسترته على درجة حرارة منخفضة ٤-٥م فإن عدد الميكروبات لا يتغير به كثيراً لمدة أسبوع أما إذا كان اللبن غير نظيف وبستر فإن عدداً كبيراً من الميكروبات يعيش بعد البسترة وينمو ويتكاثر ولو ببطء على درجة الحرارة المنخفضة - وعقب البسترة يبرد اللبن ثم يعبأ فى زجاجات نظيفة معقمة . ويجب المحافظة على اللبن من إعادة تلوثه بعد البسترة من العمال أو الأدوات أو الذباب ومن أهم أسباب فساد اللبن المبستر المحفوظ على درجة حرارة منخفضة هى البكتريا المحبة للبرودة .

إختبار كفاءة البسترة Efficiency of pasteurization

يتم هذا الاختبار بواسطة تقدير الفوسفاتيز Phosphatase Test والفوسفاتيز إنزيم يفصل الفوسفات من مركبات الفوسفات وهو موجود فى اللبن ويصل إليه من أنسجة الحيوان والغدد الثديية . وهذا الإنزيم يفسد بالبسترة لذلك فهو لا يوجد فى اللبن المبستر. ولإجراء الاختبار يضاف جزء من اللبن المراد اختباره إلى محلول منظم من بورات الصوديوم مع صودا كاوية ومادة فوسفاتية هى داى صوديوم ميثيل فوسفات يحضن الخليط فإذا كان الإنزيم موجوداً فإنه يحلل المادة الفوسفاتية ويخرج منها الفينول والفوسفات . ويكشف عن الفينول المتكون بمادة 2.6 Dibromo-quinone-chloroimide وإسمه التجارى Boc فإذا تكون

لون أزرق من الأندوفينول دل ذلك على وجود الفينول وبالتالى يـدل علـى وجود إنزيم الفوسفاتيز وعدم كفاءة البسترة .

جودة اللبن Quality of milk

يشترط فى اللبن الجيد أن يكون ذو قيمة غذائية عالية وأن تكون فترة حفظه طويلة وله طعم ورائحة مرغوب فيها وأن يكون نظيفاً مأموناً للشرب وتقل جودة اللبن بسبب نمو الميكروبات فيه ، ولذلك تتخذ الأعداد العالية من البكتريا الموجودة فى اللبن دليلاً على سوء الإنتاج والتداول واحتمال التلوث بميكروبات ممرضة. ويقدر عدد البكتريا فى اللبن بطريقة الأطبـاق وهـى الأكثر شيوعاً أو بطريقة العد المباشر بالميكروسـكوب أو بسـرعة تكـون الحامض أو باختبار اختزال لون أزرق الميثيلين .

يحتوى اللبن عند خروجه من ضرع الحيوانات على أعداد قليلة جدا من الميكروبات إذا كانت تلك الحيوانات سليمة صـحياً ولا تسـتطيع هـذه البكتريا القليلة في العادة أن تنمو جيداً فى اللبن تحت الظروف العادية . ولكن يتعرض اللبن للتلوث بعد الحليب من أجزاء الضرع الخارجية وخصوصاً إذا كان غير معتنى بنظافتها أو بأجزاء التربة والسماد التى تكون موجودة فـى فرشة الحيوانات ومنتشرة فى جو الإسطبل وخصوصاً إذا كان متربا ويقـل عدد الميكروبات التى تصل إلى اللبن إذا كانت الحلابة آلياً بواسطة الماكينات وليس باليد ويقل عدد الميكروبات إذا كان الحيوان معتنى به بانتظام والضرع مغسول بالماء أو بمحلول مطهر وكلما أبعدت الحيوانات عن الأماكن التـى بها مياه راكدة أو موحلة .

والمصدر الثانى للتلوث هو أدوات الحلابة نفسها مثل ماكينة الحليـب والأقساط والأحواض والمواسير والمبردات وإذا لم يتم نظافتها جيداً وتطهيرها فإنها تصبح مصدراً خطيراً للتلوث . وإذا لم يتم تجفيف الأقساط التى يعبأ فيها

اللبن على سبيل المثال فإن الميكروبات تتكاثر فى المتبقى الجـاف وتصـبح مصدر عدوى للبن الجديد وتشمل هذه الميكروبات بكتريا حمض اللاكتيـك - بكتريا القولون - البكتريا المحبة للبرودة - البكتريا السالبة لجرام - البكتريـا المقاومة للحرارة والعصويات والبريفيبكتريا *Brevibacteria* .

أما بقية مصادر التلوث فهى الحلاب وملابسه ووسائل النقل وعمال المصانع والذباب والصراصير وهم عادة يضيفون قليلاً من الأعداد ولكنها قد تكون ممرضة وفى هذا مصدر الخطر . وتستخدم بعض المواد مثل مركبات الأمونيوم الرباعية والهيبوكلوريت فى أعمال النظافة ولكن تشـجع المـادة الأولى نمو الميكروبات السالبة لجرام والثانية نمو الميكروبات الموجبة لجرام ويمكن أن يتعرض أى منتج أخر من منتجات اللبن إلى التلوث إضافة إلـى التلوث الذى حدث أصلاً فى اللبن الخام .

فالزبد يمكن أن يضاف إليه تلوث جديد من ماكينات الخض أو مـن ماء الغسيل أو من القشدة القديمة أو من ماكينات التقطيع أو التغليف واللـبن الجاف يمكن أن يتلوث عند التعبئة وكذلك اللبن المكثف المحلى من ماكينات الإعداد ويمكن أن تتلوث الجبن من الهواء وأحـواض التملـيح والرفـوف وأماكن التعبئة والتغليف ، والأيس كريم عن طريق الإضافات . ويمكـن أن تزيد أعداد الميكروبات التى تلوث اللبن ومنتجاته بنموها فيها إذا لم تحفظ فى جو يمنع نمو هذه الميكروبات .

أنواع الفساد Types of spoilage

يعتبر اللبن بيئة ممتازة لنمو الميكروبات نتيجة احتواءه على جميـع المواد الغذائية اللازمة لنموها ولقرب الـ pH فيه من التعادل وهو يحتـوى على نسبة عالية من الرطوبة ومواد الطاقة مثل اللاكتوز والدهن والسـترات والمركبات النتروجينية فى صورة بروتينات وأحماض أمينية وأمونيا ويوريا

ومواد معدنية . وتوجد باللبن الناتج حديثاً بعض المواد المثبطة مثل اللاكتوبيروكسيديز والأجلوتينات ولكنها سرعان ما يبطل مفعولها . ونظراً لوجود سكريات باللبن قابلة للتخمير بواسطة البكتريا فإن التخمير الحامضى فى اللبن هو المحتمل تحت الظروف العادية ولكن تحللات أخرى يمكن أن تتم إذا لم تتوفر الظروف المناسبة للتخمير الحامضى .

إنتاج حامض Acid production

إذا حمض اللبن فإنه يعتبر فاسداً بالرغم من أن التخمر اللاكتيكى الحامضى يستخدم فى صناعة منتجات ألبان كثيرة مثل الجبن والزبادى ، والمظهر الذى يصحب الحموضة طعم لاذع وتخثر فى محتويات اللبن ليعطى خثرة صلبة أشبه بالجيلى أو خثرة ضعيفة تفقد الشرش بسهولة . والتخمر اللاكتيكى هو التخمر المحتمل فى اللبن المحفوظ على درجة حرارة الغرفة وهو نوعان المتجانس والمختلط . وفى اللبن الخام على درجة ١٠ – ٣٧°م تقوم ميكروبات *Streptococcus lactis* أساساً بإحداث تخمر من النوع المتجانس وتكوين الحموضة ويمكن أن تنمو معها ميكروبات القولون و *Micrococcus, Lactobacillus* . أما على درجات الحرارة المرتفعة من ٣٧ – ٥٠م فإن ميكروب *Str. faecalis , Str. thermophilus* ينتجان حوالى ١% من الحامض يتبع ذلك نمو مثل *Lactobacilli, L. bulgaricus* .

أما أعلى من ٥٠°م فإن البكتريا المحبة للحرارة يمكنها النمو مثل *L.thermophilus, Bacillus sp* أما الألبان المحفوظة قريبا من الصفر فإن تكون الحموضة يكون قليلا . إلا أنه عند هذه الدرجة يحدث فساد من نوع أخر نتيجة تحلل البروتين . ويمكن أن ينتج أحماض أخرى مثل حمض البيوتيريك نتيجة نمو ميكروبات *Clostridium sp* تحت ظروف تثبيط نمو ميكروبات التخمر اللاكتيكى الطبيعى . هذا كما هو الحال فى اللبن المعامل

بالحرارة بحيث تقتل فيه جميع الخلايا الخضرية ولا تبقى فيه سوى جــراثيم بعض البكتريا ومنها *Clostridium* فإنه يتم فيه تخمر بيوتيرى ينتج حمض البيوتيريك مع غازات الهيدروجين وك أ$_2$.

إنتاج الغاز Gas production

يصحب إنتاج الغازات فى العادة تكون الأحماض وهو غير مرغـوب فيه سواء في اللبن أو منتجاته . أهم البكتريا المنتجة للغازات هــى ميكروبــات القولون وبعض *Yeast, Bacillus, Clostridum* وبكتريا حمض البروبيونيك وبكتريا التخمر اللاكتيكى المختلط. ويمكن ملاحظة إنتاج الغاز فى اللبن بظهور الرغاوى على سطح اللبن إذا كان سائلا أو على شكل فقاعات محبوسة داخــل الخثرة إذا كان اللبن متجبناً ، ويمكن أن تكون الخثرة كلها مرفوعة إلى أعلى أو مشققة في حالة التخثر العاصــف Stormy fermentation. واحتمــال تكــوين الغازات فى اللبن ونوع الميكروبات المسبب لتكوين الغاز يتوقف علــى نــوع المعاملة السابقة للبن ودرجة الحرارة المحفوظ عليها .

فمثلا فى اللبن الخام من درجة الصفر وحتى ٣٧م يكــون لبكتريــا القولون النصيب الأوفر فى التخمير وتكوين الغاز لأنها تستطيع أن تنــافس البكتريا المنتجة للحموضة . وتستطيع البكتريا المختلطة التخميــر أن تنــتج غازات أيضاً على هذه الدرجة ولكنه غير كاف للاستدلال عليه . أما الخمائر وهى القادرة على تخمير سكر اللاكتوز وإنتاج الغازات فهى عادة ما تكــون غير موجودة أو موجودة بنسبة ضئيلة ولا تستطيع التنافس مع بقية البكتريا ، وهى فى بعض الأحيان تكون غازات فى القشدة التى تجمــع بانتظــام فــى المزارع والتى تتعرض للحموضة حيث تشجع الحموضة نمو الخمائر. أمــا *Bacillus, Clostridium* المنتجين للغازات فهما لا ينمــوان فــى حــرارة الثلاجة ولا يتنافسان مع البكتريا المنتجة للأحماض حتــى علــى الــدرجات

العالية ولكن إذا كانت الميكروبات المنتجة للأحماض غائبة أو غير نشطة وذلك في اللبن المبستر أو المعامل على درجة حرارة أعلى حيث تقتل الميكروبات المنتجة للأحماض أساسا فإن جراثيم *Bacillus, Clostridium* تنمو وتكون الغازات وهى تضر بصناعة الجبن ، أما البكتريا المنتجة لحمض البروبيونيك فهى عادة غير نشطة فى اللبن .

تحلل البروتين Proteolysis

يصحب تحلل البروتين في اللبن تكون طعم مر نتيجة لتكون البيتيدات. ويتم تحلل البروتين عند درجات الحرارة المنخفضة بصورة أفضل أو عند قتل الميكروبات المنتجة للأحماض بالحرارة أو عند استهلاك الحمض المتكون فى اللبن بواسطة الفطريات والخمائر السطحية أو عند معادلة الأحماض بواسطة منتجات أخرى . وهناك أنواع لهذا التحلل هى :

١- التحلل الحامضى : وفيه يتم تحلل البروتين وتكون الأحماض فى نفس الوقت.

٢- التحلل مع نسبة ضئيلة من الحموضة أو تكون قلوية .

٣- التخثر الحلو : الذى تتسبب فيه إنزيمات بكتيرية شبيهة بالرينين .

٤- التحلل البطئ : بواسطة الإنزيمات الداخلية للبكتريا بعد تحللها .

ويتكون فى النوع الأول خثرة منكمشة مصحوبة بطرد كثير من الشرش ثم يعقب ذلك هضم بطئ للخثرة وتقل كثافتها وتزداد شفافيتها ، ويمكن لبعض أنواع البكتريا أن تذيبها إذابة كاملة . وأحياناً تنفصل الخثرة إلى جسيمات صغيرة تتكمش بحيث تبدو ضئيلة وسط الشرش الكثير . وتحلل البروتين الحامضى يمكن أن يتسبب بواسطة ميكروبات *Micrococcus* وبعضها ينمو فى ضرع الأبقار ويسبب تلف اللبن الناتج بطريقة غير نظيفة. وهناك أنواع أخرى مثل كرويات القولون المسيلة للبروتين مثل

Streptococcus faecalis var. Liquifaciens وهو مقاوم للحرارة ويمكن أن يسبب تحلل البروتين فى اللبن المبستر وهناك أيضاً جراثيم بعض أنواع *Bacillus* التى تبقى بعد البسترة أو حرارة أعلى منها وتسبب الفساد وهى عصويات ميكروب *Bacillus cereus* .

أما تحليل البروتين بواسطة البكتريا التى لا تستطيع تخمير اللاكتوز فهو يتم فى مجال واسع ابتداء من التحليل البسيط الذى لا يستدل عليه إلا كيماوياً حتى التحلل التام الذى سبق أن أشرنا إليه سابقاً حيث تتكون كمية ضئيلة من الأحماض أو لا تتكون مطلقاً وفى الحقيقة يتحول اللبن إلى القلوية مع الوقت نتيجة منتجات تحلل البروتين ومعظم هذه البكتريا تخثر اللبن تخثراً حلواً بإنزيمات الرينين قبل هضم الكازين والبعض الآخر يحلله مائياً بسرعة حتى أنه لا يستدل على تكون خثرة بحيث يتبقى سائل رائق تماماً بدون أى أثر للكازين وبعض هذه الميكروبات النشطة فى هضم الكازين توجد بين أجناس *Serratia, Micrococcus, Alcaligenes, Pseudomonas, Proteus, Flavobacterium, Achromobacter* وكلها أجناس بكتيرية غير متجرثمة . ومن الواضح أنه من بين هذه الأجناس من يمكنه النمو فى ظروف الحرارة المنخفضة مثل *Micrococcus, Flavobacterium, Pseudomonas* وبالتالى يتكون الطعم المر فى اللبن المحفوظ فى الثلاجة نتيجة تحلل البروتين . ولا يوجد من بين هذه البكتريا التى تعيش فى جو التبريد إلا بعض أنواع *Micrococcus* ، ولذا فإن فساد اللبن المبستر فى الثلاجة يمكن أن يتم بواسطتها . وأما الأنواع المتجرثمة مثل *Bacillus, Clostridium* والتى تتبقى بعد البسترة فهى لا تنمو فى جو الثلاجة وهى فى الجو العادى لا تستطيع التنافس مع البكتريا المنتجة للأحماض ولا تقوم بدورها إلا فى اللبن المعامل بالحرارة الذى تم فيه قتل

البكتريا المنتجة للأحماض . أما التحلل البطئ بواسطة الإنزيمات الداخلية بعد تحللها فليس له وجود فى اللبن تحت الظروف العادية ولكن يمكن حدوثه إذا سمحت المدة بذلك أى بعد وقت طويل كما فى عملية تمليح الجبن .

اللبن المطاط Roby milk

ويحدث القوام المطاط أو اللزج فى اللبن والقشدة والشرش وهذا يمكن أن يكون طبيعياً إذا كان اللبن من حيوانات مصابة بالتهاب الضرع ، أو إذا كانت القشدة سميكة على سبيل المثال عند قمة الزجاجة ، أو فى الفيلم السطحى المكون من الكازين أو اللاكتو البيومين أثناء التبريد . أما القوام اللزج أو المطاط والذى ينشأ بفعل البكتريا فإنه يتكون من مواد الكبسولات اللزج الذى يحيط بالخلايا البكتيرية وينشأ عادة فى درجات الحرارة المنخفضة ويقل القوام المطاط اللزج كلما زادت الحموضة وهناك نوعان من هذا القوام اللزج أحدهما ينشأ عند السطح والآخر ينشأ فى كل الكمية وينشأ الأول غالبا نتيجة نمو ميكروبات *Alcaligenes, visicolactis* وهو متحمل للبرودة وينمو جيدا على ١٠م وكذلك ميكروب *Micrococcus* وهو مقاوم للحرارة . أما النوع الثانى من اللزوجة فيتكون من أنواع كثيرة من الميكروبات مثل بكتريا القولون *Enterobacter aerogenes* *Enterobacter cloaca,* والقوام اللزج من هذه البكتريا يكون قريباً من السطح وتقوم بها كذلك ميكروبات *Streptococcus lactis* *Streptococcus cremoris, L. plantarum, lactobacillus casei,* L. *bulgaricus* وكذلك بعض البكتريا المنتجة للقلويات ويتثبط نمو هذه البكتريا بالحموضة .

التغير فى الدهن Change in fat

تقوم البكتريا والخمائر والفطريات بتحليل دهن الزبدة والبكتريا التى تقوم بهذه العملية هوائية أو هوائية اختيارية وهى أيضا محللة للبروتين

وبالرغم من تكون بعض الأحماض عند تحليلها إلا أنها توضع تحت البكتريا الغير منتجة للأحماض . وهى تؤكسد الـدهن إلـى الدهيـدات وأحمـاض وكيتونات أو تحلله بإنزيمات الليبيز أو تستخدم الوسيلتين معا وتقـوم بهـذه العمليـات بكتريـا *Clostridium* Pseudomonas, *Proteus*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*

إنتاج القلوية Alkali production

يقصد بإنتاج القلوية هنا تلك التى يتم بدون أى دليـل علـى تحلـل البروتين وهى تنشأ من تكون الأمونيا أو اليوريا أو الكربونات أو الأحماض العضوية مثل الستريك ومعظم أنواع البكتريا هنا من التى تعيش فى الحرارة المنخفضة مثل *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*

تغيرات الطعم Change in taste

يمكن أن يكون طعم اللبن الخارج من الضرع غير طبيعـى نتيجـة لمرض الحيوان أو يرجع إلى فترة الحليب أو نوع الغذاء ولكن يشمل التغير فى الطعم الطبيعى نتيجة التلوث ونمو الميكروبات تكون المذاق الحامض أو المر أو الكراميلى . وينشأ الأول من ميكروبات ستربتوكوكس لاكتيس وبقية بكتريا حمض اللاكتيك وهو طعم حامضى نظيف *Streptococcus lactis* . ولكن ينشأ الطعم الحامضى الحاد عندما تتكـون أحمـاض مثـل الخليـك والبيوتريك عند نمو بكتريا القولون والكلوستريديم والطعم الحامض الأول هو المرغوب فيه والثانى غير مرغوب فيه .

أما الطعم المر فينشأ عند تحلل البروتين وينشأ كذلك عن تحلل الدهون وعن تخمير اللاكتوز والطعم الكراميلى تكونه سلالات مـن *Streptococcus lactis* وهناك تغيرات أخرى مـن الطعـم المخـزون وتسـببه ميكروبـات

Enterobacter sp والطعم الصابوني وتسببه ميكروبات مكونة للأمونيا مثل *Pseudomonas sp*

وطعم المولت وتسببه بعض *Micrococcus sp* الصفراء . وطعم البطاطس وتسببه ميكروبات *Pseudomonas sp* . وطعم السمك ويسببه ميكروب *P. ichthyosmia* . وبعض الميكروبات التى تكون مركب التراى ميثيل أمين . الطعم الطينى وتسببه ميكروبات Actinomycetes وطعم الفواكه أو الطعم الكحولى أو الاسترى وتسببه الخمائر والطعم المتعفن وتسببه بكتريا *Clostridium spp*

تغيرات اللون Change in colour

يتأثر اللون طبيعيا بالتركيب الكيماوى وعلى سبيل المثال كمية الإصفرار الطبيعي في الدهن وكذلك مدى خفة قوام اللبن ومقدار احتوائه على الدم والصديد . وتحدث التغيرات في اللون مع التغيرات السابقة التى أوضحناها من قبل وينتج التغير إما نتيجة نمو سطحى لميكروبات ملونة أو فطريات أو يحدث التغير فى لون اللبن كله نتيجة النمو الشامل للميكروب . وأهم التغيرات اللونية المشاهدة هى تكون اللون الأزرق أو الأزرق الرمادى نتيجة نمو ميكروبات *Pseudomonas* . إلا أن اللون الأزرق العميق يتكون إذا نما مع الميكروب ميكروب *Streptococcus lactis* ويتكون اللون الأزرق أيضا نتيجة Actinomycetes وبعض أنواع الفطريات مثل *Geotrichum candidum* .

بينما اللون الأصفر ويسببه ميكروب *P. xynxantha* في طبقة القشدة وينتج اللون الأصفر أيضا ميكروب *Flavobacterium* ويوجد أيضا اللون الأحمر ويكونه ميكروب سراتيا مارسيسنز *S. marcescens* وهو ضئيل الحدوث بسبب نمو بكتريا أخرى بطريقة تغطى على نمو هذه الميكروبات أما

ميكروبات *Brevibacterium erythrogenes* فهى تنتج طبقة حمراء علــى السطح يتبعها تحلل البروتين ويمكن لميكروب *M. roseus* عنــد نمــوه أن يكون طبقة حمراء فى القاع أما خمائر *R.glutinis* فهى تكون بقعا حمراء أو قرمزية على سطح القشدة . وهنــاك اللــون البنــى وتكونــه ميكروبــات *Pseudomonas* بواسطة الأكسدة الإنزيمية للتيروزين .

فساد اللبن على درجات الحرارة المنخفضة Spoilage of milk at low temperature

يبدأ الفساد على درجات الحرارة المنخفضة بواسطة ميكروبات مــن أجنـــــاس *Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium* وهـــــذه الميكروبات تحدث تغيرات فى الطعم واللون والقوام كما سبق أن أوضحنا . وفى درجات الحرارة المنخفضة يكون تحلل البروتين قليلاً بسبب ضعف نمو الميكروبات المحللة للبروتين عند هذه الدرجة . أما عند درجة حرارة الغرفة فإن التخمر الحامضى يكون شديد الاحتمال بواسطة بكتريا حمض اللاكتيــك السبحية وبكتريا القولون ثم عصويات حمــض اللاكتيــك الأكثــر تحمــلا للحموضة . ثم تنمو الخمائر على السطح ويؤدى نموها إلى خفض الحموضة مما يسمح بتكون أحماض أخرى حتى تنتهى بكتريا حمض اللاكتيك من إنتاج معظم الأحماض . وفى هذه المرحلة تبدأ الميكروبات المحللة للبروتين فــى النمو وفى نهاية هذه المرحلة يتحول اللبن إلى سائل رائق عفن الرائحة .

فساد اللبن المكثف والمجفف Spoilage of dried and condemsive milk

ويشمل اللبن المكثف وغير المحلى واللبن يعامل بالبسترة أولا ثم يركز بالتبخير على درجة حرارة منخفضة تسمح بنمو الميكروبات الثرموفيلية ويعبأ فى صفائح ويعامل بالبخار تحت ضغط لقتل كل الميكروبات ولكن إذا كانــت المعاملة بالبخار غير كافية بحيث تبقى جراثيم الميكروبات الثرموفيلية وتؤدى إلى انتفاخ الصفائح وترسب اللبن وتكون الطعم المر . ويتم الانتفاخ بواســطة

نمو ميكروبات *Clostridium sp* اللاهوائية ويتم ترسب الكازين فـي خثـرة صلبة بواسطة ميكروبـات *Bacillus cereus, B. subtilis, B.megaterium,* *B. coagulans* والميكروبين الأخيرين مقاومين للحرارة ويمكن أن يتم الفساد نتيجة ثقوب Leakage فى الصفائح تؤدى إلى حدوث تلوث خارجي .

أما اللبن المكثف المحلى فيصنع على درجـات حـرارة مـن ٧١ – ١٠٠°م فى التسخين المبدئى ثم ٤٨,٩ – ٥٤,٤°م عند التبخير مما يؤدى إلـى قتل الخمائر والبكتريا فى الأطوار الخضرية وبالإضافة إلى ذلك توجـد بـه إضافات سكر تعادل ٥٥ – ٦٠% ولذا فإن التلف يتم أساساً مـن ميكروبـات تأتى بعد التصنيع وخصوصاً فى وجود الهواء وأهم الميكروبات التى تحـدث التلف خمائر من جـنس *Toruola lactis condensi* وتوريـولا جلوبيـولا *T.globiola* وقليل ما يحدث التلف بواسطة بكتريا القولون. ويحـدث القـوام الثقيل بواسطة بكتريا *Micrococcus* التى تفرز إنزيم الرينين الذى يخثر هـذا اللبن أو تنمو الفطريات من جنس *Aspergillus, Penicillium* ويتحدد نموهـا بكمية الهواء الموجودة .

فساد الزبد Spoilage of butter

معظم الفساد فى الزبد يرجع أصلاً إلى القشدة التى صنعت منها فـإذا تركت القشدة لمدة أيام قبل تصنيعها فإنها تكون عرضة لنمو بكتريـا حمـض اللاكتيك أو البكتريا المنتجة للأحماض . وكـذلك بعـض الفطريـات مثـل *Geotrichum candidum* وبعض الخمائر المخمرة للاكتوز ويمكن أن تحدث جميع أنواع الفساد التى سبق ذكرها فى معرض الحديث عن فساد اللـبن فـى القشدة ويمكن أن يؤثر نوع الغذاء على طعم القشدة أيضا فالعلائق التى تـدخل فيها الثوم والبصل يظهر تأثيرها فى طعم القشـدة . وكـذلك بعـض المـواد المتطايرة والتى تعلق فى الهواء مثـل الكيروسـين والجـازولين ومبيـدات

الحشرات تبقى رائحتها فى القشدة وتنتقل إلى الزبد . أما نمـو الميكروبـات فيحدث فساداً في طعم القشدة مثل :

طعم الجبن	:	وتسببه عصويات حمض اللاكتيك .
الطعم الزنخ	:	وتسببه الميكروبات والخمائر والفطريات المحللة للدهون.
الطعم المخزون	:	وتسببه ميكروبات *Enterobacter*
طعم المولت	:	وتسببه ميكروبات سربتوكوكس لاكتس
طعم الخميرة	:	وتسببه الخمائر Yeasts
الطعم العفن	:	وتسببه الفطريات والأكتينومايسيتات .
الطعم المعدنى	:	ويسببه ذوبان المعادن فى القشدة الزائدة الحموضة .
الطعم الحامض	:	وتسببه البكتريا المنتجة للأحماض .
الطعم الغير نظيف	:	وتسببه بكتريا القولون Coliform bacteria

أما الزبد فيتعرض للتعفن بواسطة *Pseudomonas* ويصل إلى الزبد في ماء الغسيل أو الأوانى . والطعم السمكى ويسببه بسيدوموناس *Pseudomonas ichthiosmia* أو الطعم الاسترى ويسببه *P.fragi* أو الطعم المقبض ويسببه *P.mephitica* أو طعم الركفورت ويسببه الفطريات . أما فساد اللون فى الزبد فينتج فى صورة ألوان تنتج بواسطة الفطريات والبكتريا مثل فطر الألترناريا والكلادوسبوريم وهو يحدث تلوثاً قاتماً بنياً أو مخضراً . أما فطر *Geotrichum* فينتج بقعاً صفراء أو برتقالية وينتج فطر *Fusarium* بقعاً حمراء قرمزية وينتج *Penicillium* بقعاً خضراء أو الخمائر تنتج بقعاً قرمزية . وأما ميكروب *Pseudomonas* فينتج بقعاً ذا لون بنى محمر .

فساد الجبن Spoilage of cheese

يمكن تقسيم الفساد الميكروبيولوجي فى الجبن إلى قسمين . القسم الأول ويتم أثناء التصنيع والقسم الثانى يتم أثناء التسوية .

القسم الأول من الفساد يتم أثناء عملية تصفية الشرش وفى هذه الأثناء تتم عملية التخمر اللاكتيكى وإذا كانت ميكروبات حمض اللاكتيك غير نشطة ، أو يحدث تلوث كبير بميكروبات أخرى فإن تحولات غير مرغوبة تتم بها يغير من قيمة الجبن النوعية وأخطر أنواع التلوث هى التلوث بميكروبات القولون جنس *Enterobacter aerogenes* والخمائر المخمرة للاكتوز وكذلك الميكروبات اللاهوائية المتجرثمة من جنس *Clostridium* وهى تنمو خاصة إذا كان اللبن مبستراً أو اللبن الخام إذا لم تكن البادئات جيدة ويحدث التلوث بميكروبات *B. polymyxa* غازات وأضرار أخرى أثناء التصنيع ويمتد أثارها إلى التسوية . وعموما إذا لم تكن بكتريا البادئات فى حالة جيدة فإن صفات الخثرة سوف تسوء وذلك لنمو الميكروبات المحللة للبروتين والتى يفسد نموها طعم الجبن وكذلك يتحول قوام اللبن إلى قوام لزج بواسطة بكتريا التربة *P. Viscosa* أو *P. fragi* أو *Alcaligenes*

والفساد الذى يتم أثناء التسوية أو أثناء التمليح فإنه يغير الخواص الطبيعية والكيماوية للجبن وينشأ عن الإنزيمات التى تبقى بعد تحلل البكتريا التى تمت أثناء التصنيع وبفعل الميكروفلورا التى تنمو أثناء التسوية . وينتج عن نمو الميكروبات الغريبة عند عملية التسوية سوء القوام والمظهر العام والطعم . ويختلف التغير باختلاف نوع الجبن ومعظم الأنواع يتكون فيها غاز متأخر تكونه الميكروبات المخمرة للاكتات من جنس *Clostridium* . كذلك العصويات الهوائية وبكتريا حمض البروبيونيك ومخمرات اللاكتيك المختلطة والفجوات الغازية مرغوبة فى الجبن السويسرى ، ولكنها غير مرغوبة فى الأنواع الأخرى ويؤدى زيادة إنتاج الغاز فى الجبن السويسرى إلى التشقق

وهو غير مرغوب فيه ويصحب ذلك تغير فى الطعم لإنتاج حمض البيوتريك بواسطة الميكروبات اللاهوائية . ويتكون الطعم المر نتيجة نمو الميكروبـات المحللة للبروتين من مجموعات بكتريا القولون ، *Micrococcus* ونادراً نتيجة نمو الخمائر الذى يصحبه طعم حلو مصحوب برائحة الخميرة .

ويحدث الفساد فى الجبن التى تتكون فيها أحماض كافيـة فـى بدايـة التخمير بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك أو إذا استهلك الحامض المتكون نتيجة نمو البكتريا المخمرة للأكتات مثل *Cl. tyroputricum* أو المنتنات اللاهوائيـة مثل *Cl. sporogenes Cl. lentoputrescens* وينتج اللون الأسود نتيجة تكون السـلفيدات ويصـحبها طعـم سـئ نتيجـة نمـو ميكـروب *Bacterium Proteoliticum* وينتج التلون أثناء تسوية الجبن ربما لتأثير الميكروبات على المواد الملونة المستخدمة فى صناعة الجبن مثل الجبن الشـيدر أو أن تكـون الميكروبات ملونة أو أن تفرز ألواناً داخل الجبن . وينتج اللون الأخضـر أو الأزرق أو الأسود نتيجة تفاعل يد٢ كب المنتج من الميكروبات مع المعادن أو الأملاح المعدنية وتتفاعل مجموعة السلفوهيدريل التى تفرزها البكتريـا فـى بعض إفرازاتها لتعطى لوناً قرمزياً إلى طينيا وتنتج الألوان الحمراء أو البنيـة أو الرمادية البنية نتيجة أكسدة التيروزين فى الجبن الطرى . والبقع الصدئية فى الجبن الشيدر تنتج مـن نمـو ميكـروبـات *L. plantarum L. brevis v. rudensis* بينما البقع البنية أو الصفراء أو القرمزية على سطح العيون فـى الجبنة السويسرى فإنها تكون نتيجة نمو ميكروبات حمض البروبيونيك .

كذلك يفسد الجبن التام النضج حسب نسبة الرطوبة به فالجبن الطـرى يكون أكثر تلفاً من الجبن الجاف وأهم أنواع الفساد التى يخشى منها فى الجبن الجاف هو نمو الفطريات على السطح أو فى الشقوق أو فى الفجوات وحتـى الجبن الذى يعتمد على نوع معين من الفطريات فى التسوية يمكـن أن يتلـف بأنواع أخرى من الفطريات . ومعظم أنواع الجبن الجاف له قشرة تحميه نوعاً

ما من التلف بالبكتريا ولكنها ليست جافة بالقدر الكافى حتى تحمى الداخل من التلف بالفطريات وتكون معظم الفطريات بقعاً ملونة محدودة علـــى الســـطح وغير متعمقة ولكن بعض الفطريات يكون عفناً خفيفاً متعمق من داخل الجبن .

الأمراض التى تنتقل باللبن Milk borne diseases

يمثل الحيوان المريض المصدر الرئيسى لتلوث اللبن يليه فى ذلـــك الإنسان سواء كان مريضاً أو حاملاً للميكروب Carrier ولذلك يجب عـــزل الحيوان المريض وإجراء عملية بسترة للبن .

١ – أمراض تنتقل من الحيوان المصاب إلى اللبن

أ) إلتهاب الضرع Mastitis

ويسببه ميكروب *Streptococcus agalactis* وهذا الميكروب غيـــر ممرض للإنسان بينما هناك أنواع خطيـــرة أخـــرى مثـــل *Streptococcus pyogenes* حيث يسبب أيضا التهاب الضرع ولكن إذا أصاب الإنسان يسبب التهاب الزور. وكذلك ميكروب *Staph. aureus* الذى يسبب التسمم الغـــذائى للإنسان .

ب) مرض السل Tuberculosis

ويسببه ميكروب *Mycobacteriium tuberculosis* الذى يصل إلى اللبن من الحيوان المصاب أو من الروث .

ج) الحمى المالطية (المتقطعة) Malta fever

ويعتبر مرض الـــ Brucellosis من الأمراض الخطيرة التى تصـــل للإنسان عن طريق اللبن ويســـببه ميكـــروب *Brucella abortus* وكـــذلك ميكروب *Brucella melitensis* حيث توجد بالماشية والخنـــازير والمـــاعز ويسبب ميكروب *B.abortus* مرض الإجهاض فى الماشية مما يسبب خسائر فى الثروة الحيوانية .

د- التسمم بالسالمونيلا Salmonellosis

وتسببه أنواع من جنس *Salmonella* التى تصيب الحيوان وقد تصل اللبن من البول والروث وكذلك اللحم المصاب وهذا يسبب للإنسان تسمم غذائي وقد حدث في إحدى السنوات انتشار وباء التيفود في أبردين بانجلترا خلال تناول الناس لحوم باردة ملوثة بالميكروب المسبب *Salmonella typhi* وقد وصل الميكروب للحم من آلة التقطيع حيث تكاثر الميكروب وجرى المرض مجراه ثم أدى إلى الحمى والقئ والإسهال وغير ذلك من الأعراض المعروفة لهذا التسمم كما سبق ذكره .

٢- أمراض تنتقل من الإنسان المصاب إلى اللبن

وهذه الأمراض تنتقل ثانياً إلى الإنسان مرة أخرى أى أن اللبن يعتبر عامل نقل من إنسان مريض إلى أخر سليم وهذه الأمراض مثل الحمى التيفودية والكوليرا والدوسنتاريا والدفتريا (الخناق) والتهاب الزور المعدى وكذلك مرض السل وتسمى هذه الأمراض Zoonotic diseases .

الفصل الرابع عشر :
ميكروبيولوجيا الأغذية

ميكروبيولوجيا الأغذية

Food Microbiology

أولاً : تلوث الغذاء Contamination of Food

يحدث التلوث الميكروبي للمواد الغذائية سواء كانت نباتية أو حيوانية سائلة أو صلبة سواء كانت على حالة مواد خام أو أثناء مراحل الإنتاج والتصنيع كما قد يحدث أيضا بعد الإنتاج وخلال عمليات النقل والتداول أو التخزين . وعموما تختلف أنواع الميكروبات الملوثة وأعدادها تبعا لنوع المادة وطريقة إنتاجها وتداولها وكذلك درجة العناية الصحية خلال كل هذه المراحل.

ومن أهم الشروط الواجب مراعاتها للحصول على ناتج غذائي جيد يحتفظ فيه الغذاء بصفاته الطبيعية والكيماوية والغذائية فإنه لابد من أن تبدأ عمليات الحفظ أيا كانت بمادة خام جيدة من الناحية الميكروبيولوجية. حيث أن استخدام مواد خام تالفة أو بدأ فيها الفساد يتسبب في إضافة أعداداً كثيرة من الميكروبات وهذه تستوجب معاملات إضافية مثل زيادة درجات الحرارة إذا ما كانت الحرارة وسيلة الحفظ أو إطالة التعريض للتسخين وهذا يؤثر قطعاً على نوع المنتج النهائي وأيضاً زيادة التكلفة .

كما يجب تجنب استعمال مواد خام ملوثة بمياه المجاري والخضروات المزروعة في أراضي تروى بمياه مجاري غير معاملة . أو ثمار عليها كميات من التربة أو الطين قبل أن يتم غسيلها جيداً عدة مرات بما يضمن إزالة هذا التلوث . هذا وتتعرض الأغذية بمختلف أنواعها للتلوث الميكروبي من مصادر عديدة منها الطبيعي ومنها ما يصلها عن طريق التداول والتصنيع كما يأتي :

أ : المصادر الطبيعية للتلوث الغذائى

Natural sources of food contamination

تحمل النباتات والحيوانات ميكروبات موجودة طبيعياً على سطوحها Natural flora الخارجية وكذلك قد تتعرض للتلوث بميكروبات أخرى مفسدة أو ممرضة من مصادر متعددة وفقا للوسط المحيط . وهذا التلوث يشكل خطراً جسيماً حينما يمتد إلى الأنسجة الداخلية للمادة الغذائية التى غالباً ما تكون خالية تماماً من الميكروبات إذا كانت من أصل غير مصاب وبذلك تسبب تغيرها وفسادها ويمكننا ذكر هذه المصادر الطبيعية على سبيل المثال لا الحصر كالآتي :

١- التلوث من المياه Contamination from water

لقد تلوث الماء عندما تدخل الإنسان فى قوانين البيئة التى سنها خالق الكون عز وجل وكان ذلك أحد نتائج الثورة الصناعية العلمية والطفرة الحضارية وما لها من آثار مدمرة على البيئة كلها. ويختلف المحتوى الطبيعي الميكروبي للماء حسب مصدره ، ويتراوح فى تركيزه من أعداد قليلة فى المياه الجوفية إلى عدة مئات/سم^{3} في المياه الجارية كالأنهار. ونتيجة التلوث بالمجارى أو بالتربة أو بالحيوانات النافقة فإن هذا المحتوى الميكروبى يزداد كثيراً . والمقصود بتلوث الماء هو إحداث تلف أو إفساد لنوعية المياه حيث تصبح ضارة ومؤذية غير صالحة للإنسان أو الحيوان أو النبات أو الأحياء المائية .

وللأهمية العظمى للمياه فى التصنيع الغذائى والحفظ فإن محتواها الميكروبى يؤثر تأثيراً كبيراً على الأغذية حيث ينتقل كثير من الأمراض الخطيرة عن طريق المياه الملوثة بمياه الصرف الصحي مثل البكتريا المسببة للإسهال والحمى والدوسنتاريا والكوليرا ومسببات التهاب الكلى والكبد والجهاز العصبى المركزي لذلك فإنه يجب حماية مصدر الماء المستعمل من

التلوث بمياه المجارى ثم معاملة المياه وتنقيتها بحيث تصبح صالحة للاستهلاك الآدمي سواء الاستخدام المباشر أو فى التصنيع الغذائى .

٢- التلوث من التربة Contamination from soil

تحتوى التربة على أنواع وأعداد وفيرة من الأحياء الدقيقة تلوث أسطح النباتات الموجودة بها وكذلك تلوث أجسام الحيوانات الراعية عليها . ومن مجاميع الأحياء الدقيقة الموجودة بالتربة ، البكتريا الحقيقية والراقية مثل الأكتينوميسيتات وبكتريا الحديد والخميرة والفطريات والطحالب وعند التداول أو التصنيع تغسل الأغذية جيداً للتخلص مما بها من أتربة وأحياء دقيقة على أن يتجنب تلويثها مرة أخرى بعد ذلك بقدر الإمكان. وتزداد خطورة التلوث من التربة إذا كانت قد وصلها مياه المجارى غير المعاملة والتى بالتأكيد تحتوى على ميكروبات ممرضة خطيرة .

٣- التلوث من مياه المجارى Contamination from sewage

تشكل مياه المجارى غير المعاملة خطورة بالغة الأهمية إذا ما استخدمت فى تسميد النباتات خاصة الخضر منها خاصة تلك التى تؤكل بدون طهى فإنها تلوثها بالميكروبات التى قد تكون من بينها ميكروبات معوية ممرضة كما أن مياه الأنهار والبحار يلقى بها ماء مجارى مما يلوث الأسماك والأغذية البحرية الموجودة بها .

٤- التلوث من الحيوانات Contamination from animals

الميكروبات الطبيعية الموجودة على جسم حيوانات اللحم ليست بذات أهمية إذا ما قورنت بتلك الموجودة بالأمعاء أو بالأحشاء أو بالشعر أو بريش الطيور التى تحتوى على أعداد كبيرة من ميكروبات التربة والأسمدة العضوية ومواد العلف والماء وقد يكون من بينها ميكروبات ممرضة . وتحمل السطوح الخارجية للأسماك والأغذية البحرية ميكروبات طبيعية ذات أهمية فى فسادها .

٥- التلوث من الهواء Contamination from air

الهواء العادي لا يحتوى عادة على ميكروبات طبيعية Natural flora ولكن الميكروبات الموجودة به تأتى من المواد المعلقة والأتربة وقطرات الماء ومن الرذاذ المتناثر أثناء الكلام والعطس . ومن جراثيم الفطريات النامية على الحوائط والأرضيات كما يتلوث الهواء من المنتجات الغذائية ومصانعها فمصانع إنتاج الخميرة يكون الجو حولها محملاً بالخميرة ومصانع المنتجات اللبنية يحتوى الجو المحيط بها على البكتريوفاج وميكروبات البادئات المستعملة فى إنتاج المواد الغذائية المختلفة .

وأنواع الميكروبات العادية التى توجد بالهواء هى الأنواع صغيرة الحجم والمتحملة للجفاف مثل جراثيم الفطريات والبكتريا الكروية والجراثيم البكتيرية وبعض العصويات والخمائر خاصة التى لا تكون جراثيم Asporogenous yeast وعندما يثار التراب أو المواد الأخرى فإن الهواء يتحمل بميكروبات المواد المثارة مثل ميكروبات الأراضى والمياه والنباتات الخ بالإضافة إلى الميكروبات الممرضة التى تنتقل عن طريق الجهاز التنفسى بالعطس .

ويتوقف عدد الميكروبات الموجودة بالهواء فى وقت ما على عوامل عديدة منها مقدار الحركة وضوء الشمس والرطوبة والحرارة وكمية المواد المعلقة من أتربة ورذاذ وخلافه وكذلك الموقع ويقل عدد الميكروبات بالهواء بتأثير ضوء الشمس وعقب مطر غزير وفى الجو الساكن ترسب المواد العالقة بما عليها من ميكروبات فيقل عددها وبالعكس فإن تحريك الهواء نتيجة لحركة الناس أو بالتهوية والتنفس يزيد من عدد الميكروبات ، كما أن الأماكن المزدحمة بالناس وغير المهواة يزيد عدد الميكروبات بها مما يشكل خطورة على الصحة العامة . لذلك فإن الأغذية خاصة المكشوفة عرضة للتلوث من الهواء خاصة إذا كان الهواء محملا بعدد كبير من الميكروبات وقد يكون من بينها ميكروبات ممرضة خاصة التنفسية .

٦- التلوث الإشعاعي للغذاء Contamination from radiation

يتلوث الغذاء بالمواد المشعة نتيجة تساقط الغبار الذرى على النبات والتربة الزراعية . كما يتلوث الغذاء أيضاً بسبب تلوث الهواء والماء بالإشعاع الناتج من الانفجارات أو التجارب النووية . وتدخل المواد المشعة إلى جميع أجزاء النبات ثم تنتقل إلى الإنسان عبر سلسلة الغذاء . وتتلوث الحيوانات والأسماك والأحياء المائية أيضاً بالإشعاع نتيجة المخلفات النووية في الهواء والمسطحات المائية .

٧- التلوث الكيمائى Contamination from chemicals

لقد فسد الغذاء وأصبح سبباً للعلل والأمراض بدلاً من أن يكون مصدراً للطاقة والصحة . وأصبح الناس يتناولون طعاماً بدون مذاق وتعددت الأسباب التى ساهمت فى تلوث الغذاء الكيميائى ومنها :

أ- استخدام المبيدات الحشرية السامة على نطاق واسع وتمتص النباتات هذه المبيدات الحشرية مع الماء وتتركز فى جميع أجزائها وثمارها ومن ثم تصبح الثمار سامة لمن يتناولها من الإنسان أو الحيوان .

ب-استخدام المواد الكيماوية الحافظة فى التعليب والصناعات الغذائية .

ج- استخدام الألوان والصبغات ومكسبات الطعم والرائحة فى الصناعات الغذائية مثل صبغة النعناع الأخضر وصبغة رقائق البطاطس والألوان المشابهة للون البرتقال . ولقد ثبت بما لا يدع مجالاً للشك دور هذه المواد فى إحداث الأورام السرطانية الخبيثة كما ثبت أيضاً أن مادة ٤ ثانى ميثيل أمينوازوبنزول التى تستخدم لصنع السمن الصناعى من أكثر المواد فاعلية فى إحداث الأورام فى الإنسان .

د- استخدام الأسمدة الكيماوية فى الأراضى الزراعية .

هـ- استخدام الهرمونات لتسمين الدواجن والحيوانات علاوة على أقراص منع الحمل التى يثبت علاقتها الوطيدة بالأورام السرطانية كذلك حقن الدواجن بالمضادات الحيوية أو إضافتها إلى عليقة الماشية .

و- رش الفواكه بالمواد الكيماوية الحافظة لحمايتها من التلف عند نقلها من مكان الإنتاج إلى مكان الاستهلاك .

ب : التلوث الغذائي أثناء التداول والتصنيع

Food contamination during handling and processing

بالإضافة إلى مصادر التلوث سابقة الذكر ، فإن الأغذية قد تتلوث أثناء عمليات التداول غير الواعية وأيضاً خلال عمليات التصنيع غير المراعى فيها الشروط الصحية بدقة ، ولذلك فإنه ينصح الصانع دائماً بتنظيف وتطهير الأجهزة والأوانى المستعملة وكذلك المكان والأرضيات وكذلك القائمين على عمليات التصنيع المختلفة وخلال المراحل المختلفة وذلك للإقلال من التلوث بقدر الإمكان ويمكن ذكر هذه الأمثلة كالآتى :

١- الفواكه والخضروات Fruits and vegetables

تتعرض الفواكه والخضر بعد جمعها مباشرة للتلوث بالميكروبات من الأوعية التى تجمع فيها أو من بعضها البعض ويزيد تأثير هذه الميكروبات إذا ما تعرضت الخضر والفاكهة للضرر الميكانيكى Mechanical damage أثناء الجمع والنقل لذلك فإن فرز وإبعاد الخضر والفواكه الفاسدة والغسيل بمطهرات والعناية أثناء النقل يقلل من عدد الأحياء الدقيقة ومن احتمالات التلوث. وفى التصنيع تتعرض هذه الأغذية للتلوث بدرجة أكبر خلال عمليات التقشير والتقطيع وفى ملامسة أدوات وأجهزة المصنع المختلفة لذلك فإن العناية بعمليات التصنيع مع تنظيف وتطهير الأجهزة والأدوات يقلل من التلوث . ونظراً لأهمية ذلك تحت ظروفنا وأن مصر من الدول المصدرة للخضروات والفاكهة فإنه من الأهمية بمكان ذكر الآتى باختصار :

أ- تلوث الفاكهة الطازجة **Contamination of fresh fruits**

تحمى القشرة الخارجية للفاكهة الأنسجة الداخليــة مــن الميكروبــات الموجودة على السطح الخارجى فإذا ما خدشت هذه القشرة تسربت الميكروبات إلى داخل الثمرة حيث توجد المركبات التى يسهل على الميكروبات مهاجمتهــا كالسكريات مثلاً ويكون نتيجة ذلك تلفها . لذلك فإنه يجــب المحافظــة بقــدر الإمكان على بقاء القشرة سليمة ومن المعروف أن الثمار السليمة الصــحيحة يكون داخلها خالياً من الميكروبات حتى ولو كانت القشرة الخارجيــة ملوثــة. وغالباً ما تنتمي الميكروبات الموجودة على قشرة الفاكهة إلى أنواع عديدة منها ميكروبات نافعة مثل الخميرة الموجودة على قشور العنب والتى تســاعد فــى عملية التخمر المطلوبة عند صناعة النبيذ وميكروبات ضارة ينتج عنها فســاد أثناء التداول أو النقل والتصنيع وهذه الميكروبــات يجــب الــتخلص منهــا وميكروبات أخرى ممرضة نتيجة التلوث بمياه المجارى .

ولتلافى حدوث الأمراض التى تسببها هذه الميكروبات الممرضة فإنه يجب غسيل سطوح الفاكهة بمحلول مطهر لمدة كافية ثم تغسل جيداً بعد ذلك بالماء النظيف الجارى ومن المحاليل المستعملة $CaCl_2$ بتركيز ٠,٢ – ٢ % وتغمس فيها الفاكهة لمدة ١/٢ ساعة . وكذلك يستعمل الخل كوسيلة شائعة فى المنازل خاصة للثمار التى تؤكل بدون طهى ولقد أوضحت التجارب البحثية أن الأجزاء الفاسدة أو المعطوبة من الثمار من الصعب تطهيرها من البكتريا الموجودة بها وذلك لصعوبة وصول المحلول المطهر إلــى جميــع الخلايــا الفاسدة وكذلك لتجنيب تأثير المطهر المستخدم على الصحة العامة للمستهلك . ولذلك يجب قطع الجزء المصاب تماماً من هذه الثمار واســتعمال الأجــزاء المتحللة من الفاكهة فى تحضير العصير يؤدى إلى زيادة المحتوى الميكروبى وبالتالى الإسراع فى الفساد وتقصير فترة حفظه .

والفواكه التى ليس لها قشرة سميكة تحميها مثل البلح الرطب والتين البرشومى والتوت أو الخضر مثل الفراولة يخشى منها فى نقـل الأمـراض حيث أنه لا يمكن معالجتها بالمحاليل المطهرة إذا لوثت وفى هذه الحالة تعدم وهذه الفواكه أيضاً عرضة للتلوث السريع بواسطة البائعين ومـن الـذباب والهواء وخلافه . والميكروبات التى توجد بكثرة على سطح الفواكـه هـى الفطر كمـا فـى المـوالح مثـل فطريـات *Penicillium spp* والخميـرة *Saccharomyces cerevisiae* كما فى العنب لأن الفواكه عموماً حامضية .

ب- تلوث الخضروات الطازجة Contamination of fresh vegetables

يختلف تلوث الخضروات عن ما سبق ذكره فـى الفاكهـة حيـث أن الخضروات تنمو بالقرب من سطح الأرض بعكس الفاكهة التى توجد بعيداً عن الأرض ، وبذلك فهى تحمل ميكروبات عديدة مختلفة كما أنها عرضة للتلـوث الشديد بالميكروبات الممرضة حيث يستعمل السماد البلدى ومخلفات المجـارى غير المعاملة فى تسميدها أو تغسل بعد جمعها فى مياه راكدة ملوثـة فتصـبح عاملاً كبيراً فى نقل الأمراض وكثيراً ما يحدث هذا فى الريف المصرى .

والخضروات السليمة غير الممزقة أو المجروحة تكون خاليـة مـن الداخل من الميكروبات حتى ولو كان السطح الخارجى ملوثاً وذلك كمـا فـى حالة الفاكهة ولقد وجد أنه ليس من السهل إزالـة البكتريـا العالقـة بسـطح الخضروات بالغسيل أو بماء محتوى على خل ومن الخضروات التـى يجـب التأكد من خلوها من الميكروبات الممرضة قبل تناولها الخضروات التى تؤكل طازجة بدون طهى مثل أنواع السلاطة والكرفس والبقدونس والفجل والجرجير والخس والبصل الأخضر والخيار والطماطم . كذلك أثبتت التجارب البحثية أن نقع الخضروات فى الماء يعمل على توزيع الميكروبات على جميع أجزائهـا ولا يقلل هذا التلوث إلا استخدام المواد المطهرة فى ماء الغسيل .

٢- الحبوب Cereals

تحتوى السطوح الخارجية للحبوب على بعض الميكروبات الطبيعية منذ نموها بالإضافة إلى ما وصل إليها من تلوث من التربة والمصادر الأخرى . وإذا ما خزنت الحبوب تحت ظروف رطبة فإن الفطريات تنمو ، ويلاحظ أنه أثناء عملية الطحن فإن عدد الميكروبات يقل لخروجها مع القشرة الخارجية للحبوب ، ولكن قد يحدث التلوث بعد ذلك نتيجة للتداول السيئ . وللفطريات دوراً كبيراً فى تلوث الحبوب والبذور أثناء التخزين حيث ينتج بعضها سموم خطيرة من الأفلاتوكسينات التى ينتجها فطر *Aspergillus flavus* وسطح الرغيف الطازج المخبوز يخلو تقريباً من الميكروبات ذلك عقب خروجه من الفرن مباشرة ولكنه يتعرض للتلوث بجراثيم الفطريات من الهواء الجوى ومن السكاكين المستعملة فى التقطيع ومن العبوات المستعملة إذا كانت غير نظيفة ومن أشهر هذا التلوث نمو فطر *Rhizopus nigricans*

٣- السكر والعسل Sugar and honey

قد يصبح المحتوى الميكروبى للعصير الخام عالياً خاصة إذا ترك فترة طويلة قبل تصنيعه حين يكون التلوث من قصب السكر نفسه والذى يكون مصدره أساساً من التربة . هذا وأثناء عملية التصنيع وما يتخللها من ترشيح وترويق وحرارة وتركيز وبلورة ، فإن عدد الميكروبات قد يقل ولا يبقى سوى الميكروبات المتجرثمة المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic bacteria ، ومصدر هذه الميكروبات هو المادة الخام ومعدات التصنيع الغير نظيفة. وتمثل الخميرة Yeast المصدر الرئيسى لتلوث عسل النحل وكذلك بعض أنواع البكتيريا التى تتحمل تركيز السكر العالى Osmophilic bacteria ، ويرجع مصدر هذا التلوث أساساً إلى رحيق الأزهار وحشرات النحل والهواء وكذلك التربة وأثناء التداول .

٤- اللحوم و الأسماك Meat and fishes

أ- اللحوم :

إن الأنسجة الداخلية للحيوانات والطيور السليمة تكاد أن تخلو من الميكروبات ويحدث التلوث لهذه الأغذية من خارج الحيوان من الحوافر والجلد والشعر والريش ومحتويات الأمعاء والماء والروث والغذاء . كما يحدث التلوث أثناء الذبح والسلخ من السكاكين والأيدى والذباب والهواء ومن الصناديق والعبوات والأشخاص . ويحدث التلوث أيضاً أثناء التداول والتصنيع ، وفي المنازل يكون هناك مصدر إضافي للتلوث هو عبوات الثلاجات غير النظيفة . ونظراً لتعدد مصادر تلوث اللحم ، فإنه من المتوقع أن يوجد عليها أنواع عديدة من الميكروبات :

أ- من أهم الفطريات التي تتواجد على سطح اللحم الأجناس :
Cladosporium, *Sporotrichum*, *Thamnidium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*

ب- ومن الخمائر يكثر وجود الأنواع التى لا تكون جراثيم Fungi Imperfecti

ج- ومن البكتريا يوجد : *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Coliform*, *Proteus*, *Sarcina*, *Sporeformers*, *Streptomyces*

ومعظم الميكروبات السابقة تستطيع أن تنمو عند درجة حرارة منخفضة قرب الصفر Chilling وبالإضافة إلى الميكروبات السابقة فقد تتعرض اللحم ومنتجاتها للتلوث كذلك بالميكروبات المعوية الممرضة للإنسان والتى تنتمي لعائلة *Enterobacteriaceae* . وفي دراسات بحثية بقسم الميكروبيولوجيا بكلية الزراعة جامعة المنصورة وجدت ميكروبات من جنس *Salmonella* وجنس *Staphylococcus* في اللحوم واللانشون وكلاهما من الميكروبات الضارة والتى تسبب أمراضاً خطيرة وتسممات للإنسان حيث

يسبب الميكروب الأول S. typhi حمى التيفود بينما يسبب الميكروب الثـــانى التسمم العنقودى *Staph-aureus* .

وأثبتت هذه الأبحاث العلمية أن خطورة هذه الميكروبات ليست فقــط فى إحداث التغيرات فى اللحم ومنتجاته وإنما فى إنتاج مواد سامة خطيــرة تسمى بالأمينات العديدة Polyamines والتى تسبب بعض الأمراض الخطيرة للإنسان نتيجة تراكمها فى الأنسجة مثل الكبد والكلى والبنكرياس .

ب- الأسماك

الأسماك من الأغذية الهامة فى كثير من بلاد العالم ، وهى المصدر البروتينى الثانى الذى نعيش عليه ، لذلك عنيت الامم بتحضــيرها وحفظهــا والميكروبات الموجودة على سطح السمك هى نفس الأنواع الموجــودة فــى الماء الذى أتت منـــه وأهمهــا : *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Serratia*, *Bacillus*

وبالإضافة إلى ما سبق فقد وجد بأمعاء الأسماك Coliform كما وجد ميكروبات لا هوائية من جنس *Clostridium*. ويحدث تلوث الأسماك مــن الصيادين وقوارب وأدوات الصيد ، كما أن حالــة الســمك البكتريولوجيــة تتوقف على مصدر الصيد ، لذلك كان من الضرورى أن يكون الصيد مــن مياه غير ملوثة بمياه المجارى ، وإلا تلوث السمك بالميكروبات الممرضـــة المعوية وأصبح خطراً على الصحة ، خاصة أنه قد وجد أن الطهــى غيــر كاف لقتل هذه الميكروبات الضارة ، وقد حدثت بالميكروبات الضارة والتى تنتقل إلى أنسجة السمك أثناء التنظيف حالات انتشار تيفود وتسمم من أكــل سمك ملوث مطبوخ نتيجة لتلوث الطبقة الخارجية اللزجة .

وكلما طالت مدة تخزين السمك وتداوله وتسويقه كلمــا كــان أكثــر عرضة للتلوث ، حيث أن التلوث الأكيد للسمك يحدث أثنــاء عمليــة النقــل

والتوزيع . ويلجأ بعض الصيادين إلى نزع الأحشاء الداخلية للسمك عقب صيدها مباشرة لإطالة مدة الحفظ ، ولقد وجد أن ذلك يزيد من تلوث لحم السمك بالأحياء الموجودة بتلك الأحشاء وقد وجد بالدراسة أن فتح الأسماك وتنظيفها قبل التخزين يؤدى إلى تقليل مدة الحفظ كما وجد أن عملية قلى السمك تقلل من الميكروبات الموجودة بسطح السمك خاصة عند إزالة هذه الطبقة (القشرة) عند الأكل ، وقد أثبتت الأبحاث أيضاً وجود بعض الأجناس الضارة مثل جنس *Salmonella* وجنس *Staphylococcus* بالأسماك الخام والتى تم إبادتها بعملية القلى ، بينما الأسماك المشوية تكون نسبة التلوث البكتيرى عالية نظراً لوجود أحشائها والتى بها كم هائل من الميكروبات والتى تسبب التلوث عند الأكل خاصة الميكروبات التى تقاوم درجات حرارة الشئ كذلك تحتوى كل من الكابوريا والجمبرى والأغذية البحرية الأخرى على ميكروبات عديدة بالسطح اللزج لأجسامها .

٥- الدواجن و البيض Poultry and Eggs

أ- الدواجن :

تحتوى الدواجن حديثة الذبح على مجموعات مختلفة من البكتريا على سطح الدواجن وذلك من الوسط الذى تمت فيه عملية الذبح وعملية الإعداد الغير واعية ، وكذلك الهواء المحيط بالحيز الذى تمت فيه العملية ، وكذلك التلوث من الريش ، وكذلك أدوات التنظيف . وينتشر بالدجاج أنواع من جنس:

Bacillus – Pseudomonas - Micrococcus

ب- البيض :

يكون البيض الطازج السليم معقماً داخلياً ، ولكن بمجرد وضع البيض يتعرض السطح الخارجى للقشرة للتلوث فى الحال بالمواد البرازية للطيور ومن محتويات العشش وأثناء التداول . وتعمل القشرة الخارجية

السليمة على حماية محتويات البيض الداخلية من الفساد غير أنه إذا ما رطبت القشرة بالماء بتأثير الغسيل أو من جو المكان الرطب ، فإنه يمكن للميكروبات الملوثة مثل الفطريات والبكتريا من أن تنفذ من خلال ثقوب القشرة الرطبة إلى داخل البيضة مسببة تلوثها وفسادها ، كذلك إذا تشققت القشرة ، ونظراً لأن البيض يحفظ على درجة حرارة منخفضة قرب الصفر (٢°م تقريبا) ، لذلك نجد أنه أثناء التخزين يكون معرضاً للفساد بالفطر أكثر من البكتريا ، كما أن وجود البكتريا التى تستطيع النمو على درجة حرارة منخفضة Psychrotrophic bacteria مثل : *Pseudmonas*, *Proteus*, *Achromobacter* تصبح ملوثات غير مرغوب فيها.

وقد أثبتت الأبحاث العلمية أن ظروف التخزين بالثلاجات تقلل من معدل النمو الميكروبى وإفرازها للأنزيمات ، ولكن لا يتوقف نموها تماما .

ثانياً : فساد الغذاء Spoilage of Food

قد يحدث فساد المادة الغذائية نتيجة نشاط الإنزيمات الداخلية للغذاء أو نتيجة لنشاط الميكروبات أو الاثنين معا . هذا وتنقسم الأغذية بالنسبة لقابليتها للفساد إلى ثلاثة أقسام هى أغذية ثابتة وغير قابلة للفساد : وهى التى تكون نسبة رطوبتها منخفضة جدا مثل السكر والبن والنشا والدقيق . أغذية بطيئة الفساد : وهذه مثل البطاطس والمحاصيل الدرنية الأخرى ولا يحدث الفساد فى هذه الحالة إلا إذا تم خدش الدرنة مما يسبب التلوث الخارجى ثم الفساد بعد ذلك وكذلك بالنسبة للفاكهة . أغذية سريعة الفساد : وهذه مثل اللحوم والأسماك واللبن وذلك نظرا لقيمتها الغذائية العالية ولمحتواها العالى من البروتين وكذلك نسبة عالية من التلوث الميكروبى . وتتوقف سرعة الفساد وطبيعته على نوع البكتريا المفسدة وتركيب الغذاء وكذلك المحتوى المائي ونسبة الحموضة ودرجة الحرارة ومدى تلوث المادة الغذائية .

ورغم الاختلافات فى نوع الغذاء والطرق التى أتبعت فى تداوله فإنه يمكن القول من الناحية العلمية أن كل أنــواع الميكروبــات تكــون ملوثــة للأغذية، وأن نوع المادة الغذائية وطريقة التصنيع والحفظ قد تعطى الأفضلية لبعض الميكروبات أو بعض أنواع معينة من الميكروبات أن تكون ملوثة له. ومن المعروف أن معظم المواد الغذائية تعتبر بيئات جيدة لنمو وتكاثر أنواع عديدة من الميكروبات وعندما تعطى الفرصة لهذه الميكروبات لتنمو فإنهــا تحدث تغيرات فى المظهر والنكهة والطعم علاوة علــى تغييرهــا لــبعض المكونات الأخرى للغذاء .

وأن التغيرات التى تحدثها الميكروبات فى الأغذية ليســت محــددة بنتيجة التحلل الذى يحدث فى الغذاء فقط ، ولكن أيضا قد تكون نتيجة ظهور النواتج النهائية التى تتكون من التمثيل الغذائى للميكــروب ، فمــثلا بعــض الميكروبات تلون الأغذية نتيجة إنتاجها للصبغات ، كما أن بعض الميكروبات تكسب الأطعمة قواما لزجاً وهذا يرجع إلى قــدرتها علــى إنتــاج بعــض السكريات العديدة polysaccharides وهى مكونات الكبسول البكتيرية .

أسباب الفساد الغذائى :

والفساد عموما يشمل تلك التغيرات التى تجعل الغذاء غيــر جــذاب وغير صحى وعلى الرغم من الاختلافات الموجودة بين الأفراد للحكم علــى صلاحية الغذاء للاستهلاك إلا أنهم يتفقون على بعض النقاط الأساسية التــى يجب توافرها للتحقق من صلاحية الغذاء وهى أن يكون الغذاء على درجــة النضج المرغوبة ، أن يخلو الغذاء من التلوث عند أى مرحلة مــن مراحــل الإنتاج والتداول ، أن يخلو الغذاء من التغيرات الغير مقبولة التى تنتج عــن إنزيمات الغذاء أو مهاجمة الميكروبات .

ويجب أن يلاحظ أن التغير الذى يحدث فى بعض الأحيان فى بعض الأغذية قد يعتبر فساداً بينما يعتبر تغيراً مرغوباً فى حالات أخرى ومن أمثلة ذلك التخمر اللاكتيكى فإذا ما حدث فى اللبن الخام السائل اعتبر فساداً بينمـا يعتبر تغيراً مفيداً ومرغوبا عند صناعة اللبن الزبادى وكذلك عنـد تكـون حامض اللاكتيك فى صناعة المخللات فهو من التغير المرغوب والمطلـوب ويحدث الفساد نتيجة للتغيرات غير المرغوب فيها التى يحدثها نمو ونشـاط الكائنات الحية الدقيقة ، فعل أنزيمات الغذاء النباتى أو الحيوانى ، التغيـرات الطبيعية : مثل تلك التى تحدث نتيجة معاملة الغذاء بالحرارة المنخفضـة أو بالتجفيف أو التى تحدث نتيجة تأثير الإشعاع ، فقد يسبب الضـوء العـادى تغيراً فى لون المادة الغذائية أو فى طعمها ، لذلك فإن كثيراً مـن الأغذيـة السائلة تحفظ بعيدا عن الضوء أو فى زجاجات بنية ، الحشرات : حيث تعتبر عامل مهم فى نقل المسببات المرضية إلى الغذاء .

وبالنسبة للفساد الأنزيمى ، فإن أنزيمات الغذاء النباتيـة أو الحيوانيـة تستمر فى عملها بعد جمع النباتات أو بعد ذبح الحيوانات وإذا لم تتلـف هـذه الإنزيمات فإنها تسبب فساداً للأغذية أثناء تخزينها أو تصنيعها مثل الإنزيمات المؤكسدة والمحللة للبروتين والنشا والدهون وغالباً فإن المعاملات المسـتخدمة لحفظ الغذاء من الفساد الميكروبى تتلف الإنزيمات النباتية والحيوانية .

والفساد الميكروبى هو أهم العوامل التى تفسد الأغذية يليـه الفسـاد الأنزيمى ويتسبب الفساد الميكروبى عن البكتريا أو الخميرة أو الفطر بما فيها من أنواع ممرضة أو غير ممرضة. وسوف نركز كلامنا فى هذا الجزء من الكتاب على الفساد الميكروبى. هذا وتقسم الأغذية إلى ثلاثة مجموعات على أساس سرعة تلفها إلى أغذية غير قابلة للتلف : unperishable foods مثل السكر والحبوب والدقيق وهى لا تفسد إلا إذا تداولت بإهمال ، أغذية قابلـة

للتلف جزئيا : semi-perishable foods وهى إذا ما تداولت وخزنت بعناية فإنها تبقى سليمة لمدة طويلة مثل البطاطا والبطاطس ، أغذية قابلة للتلف : perishable foods وهى تشمل معظم الأغذية مثل الخضروات والفواكه واللحوم والألبان والبيض والأسماك وهذه الأغذية ما لم تحفظ بطرق حفظ مناسبة فإنها تفسد بسرعة .

العوامل المؤثرة على نوع الفساد

توجد البكتريا والخمائر والفطريات فى جميع الأغذية الخام وهذه الكائنات هى المسئول الأول عن تلفها وفسادها ، فإذا ما توفرت الظروف المناسبة لنشاطها جميعا ففى هذه الحالة يرجع الفساد إلى أسرعها فى النمو وهو البكتريا ، فإذا ما تنافست الخميرة والفطريات فإن الخميرة غالباً هى التى تتغلب وإذا ما كانت نسبة الرطوبة منخفضة ودرجة الحموضة عالية فيقف نشاط البكتريا ويتسبب الفساد عن الخميرة والفطر. والعوامل التى تحدد نوع الفساد عديدة والفساد عادة لا يكون بسبب عامل واحد بل أن هناك مجموعة مشتركة من العوامل تحدد أى الميكروبات أكثر احتمالا لعامل الفساد وأهم العوامل المؤثرة على نوع الفساد ما يلى :

نوع وعدد الميكروبات :

نوع وعدد الميكروبات الموجودة فى الغذاء وهذه تتوقف على مدى التلوث الذى حدث والمعاملات التى مر بها الغذاء قبل تقديمه للمستهلك من غسيل واستعمال ك أ٢ أو أشعة أو حرارة والأغذية بوجه عام تحتوى على أنواع كثيرة وأعداد متباينة من الكائنات الحية الدقيقة إلا أن الفساد يرجع إلى نوع معين من هذه الأنواع وعادة ما يكون نوعاً واحداً أو أكثر من نوع ، أو تتابع نشاط معين للكائنات . بالتالى على حجم ونوع التلوث الموجود فى الغذاء والمعاملات السابقة له . ويضيف نمو الكائنات الموجودة أصلا فى الغذاء أعداداً جديدة تساهم بنصيب وافر فى الفساد وتضيف هذه الأعداد عبئاً

على عملية الحفظ . والمعاملات السابقة على العموم يمكن أن تقلل من التلوث مثل الغسيل بماء نظيف أو ببعض المطهرات . ومما سبق يتضح لنا أنه كلما زاد التلوث كلما كانت هناك أعدادا كبيرة من الكائنات تستطيع أن تساهم فى الفساد إذا أتيحت لها ظروف النمو والتكاثر ، وهذه الظروف ليست عامة لكل الكائنات بل أنها نوعية بمعنى أنها تحدد سيادة نوع على نوع أخر. فمثلا فى الظروف المثلى لنمو غالبية الكائنات تسود البكتريا على الخمائر وتسود الخمائر على الفطريات إلا أنه يمكن أن تسود الخمائر على البكتريا إذا كان حجم التلوث بالخمائر أكبر من حجم التلوث بالبكتريا . أما الفطريات فلا تسود إلا إذا كانت ظروف النمو غير مواتية للبكتريا والخمائر .

وتتنافس البكتريا فيما بينها وتتضاد ويسود نوع على بقية الأنواع وكذلك الحال بالنسبة للخمائر وليست هذه أيضا قاعدة عامة فأحيانا ما تعيش البكتريا معيشة تكافلية وأحياناً لا يحدث التغير فى المادة الغذائية إلا بنمو نوعين من البكتريا معاً مثل *Pseudomonas syncyanea* إذا نما وحده فى اللبن فإنه يحدث لوناً بنياً ولا يحدث ميكروب *Streptococcus lactis* لونيا أما إذا نما الاثنين معاً فإن اللبن سيتغير لونه إلى اللون الأزرق اللامع ويعرف هذا النظام من التكافل الذى يوفر فيه كائن معين ظروف النمو لكائن أخر بالنظام الميتابيوتك Metabiotic .

ومعظم التخمرات تتم على هذا الأساس فينمو ميكروب ينتج الحموضة على سبيل المثال حتى لا يستطيع هو أن يتحمل حموضته ويترك المجال لميكروب آخر أكثر تحملاً للحموضة ليكمل دوره . وكذلك إذا نمت الخمائر السطحية فإنها تستهلك كمية كبيرة من الحموضة بحيث تسمح بعد ذلك درجة الحموضة بنمو البكتريا المحللة للبروتين .

الظروف المحيطة بالميكروب

وهى تشمل الخواص الطبيعية والكيماوية للغذاء ومدى توفر الأكسجين والحرارة والـ pH .

١- الخواص الطبيعية للغذاء

يؤثر تواجد الماء فى الغذاء ومدى إتاحته للميكروبات على نموها ويعتبر المحتوى المائى للغذاء من أهم هذه الخواص حيث على أساسها تتوقف نسبة ونوع وسرعة الفساد الميكروبى. ويعتبر توفر الماء الحر القابل للاستفادة بالغذاء عامل مهم فى نشاط الميكروبات ، كما أنه توجد علاقة بين الرطوبة النسبية بالجو المحيط بالغذاء والنشاط المائى الخاص بالغذاء نفسه ، فإذا ما زادت الرطوبة النسبية فى الجو المحيط عن الغذاء فإن الغذاء يكتسب رطوبة ، ويبدأ فى الفساد الميكروبى من السطح وينتشر. وإذا نقصت الرطوبة النسبية فى الجو المحيط عن قيمة الغذاء فإن سطح الغذاء يجف مما يجعل ذلك عامل حفظ هام .

ولقد وجد أن الفطريات تتحمل رطوبة منخفضة ومحاليل مركزة عن الخمائر ، والخميرة تكون أكثر تحملا لهذه الظروف من البكتريا ، ولذلك فإن الفطريات تنمو فى الأغذية الجافة نسبيا وتفسدها مثل العيش والدقيق الرطب نوعاً . كما تنمو الفطريات على الأغذية المحتوية على نسبة عالية من السكر كالشربات واللبن المحلى المكثف وتفسدها مثل عصير الفاكهة ، إلا أن الخمائر المحبة للضغط الاسموزى المرتفع تستطيع أن تنمو فى عسل النحل ، إذ أن الفطريات لا تنمو فى العسل وذلك لتأثيره المثبط عليها .

والبكتريا المحبة للملوحة تفضل النمو فى محاليل الملح المركزة وهى تسبب أضراراً كثيرة فى مصانع الجبن والمخللات والأسماك المملحة ، أما الأغذية الرطبة كاللبن واللحم فإنها تفسد عادة بالبكتريا ، والأغذية المجمدة فى وجود الهواء – فإنها تتلف بالفطر ، وفى غياب الهواء فإنها تتلف بالبكتريا .

٢- الخواص الكيماوية للغذاء

تحتاج الكائنات الحية إلى مصدر غذائى لما تبذله من مجهود وهـذا غالباً ما يكون الكربوهيدرات ، وتحتاج إلى مصدر نيتروجينى للنمو والتكاثر وأفضل مصادره البروتينات . وكل كائن حى له القدرة على تحليل مواد معينة للحصول على مصادر الطاقة والنمو اللازمة له ، لذلك فإن التركيب الكيماوى للغذاء بما يحتويه من مواد غذائية تكون البيئة المزرعية التى تحدد أنواع الميكروبات التى ستنمو وبالتالى نوع الفساد الناتج .

أولاً : فساد الغذاء الخام Spoilage of Raw Food

يتوقف نوع الفساد كما ذكرنا سابقاً على نوع وأعداد الميكروبات الموجودة بالغذاء وعلى الظروف المحيطة به ، والأغذية الخام تحتوى على أنواع عديدة من الميكروبات والتى توجد تحت ظروف بيئية مختلفة . ومن المعتاد عند نمو هذه الميكروبات أن نوعاً واحداً من هذه الأحياء يسود فى نموه على باقى الكائنات ويسبب الفساد . وفى هذه الحالة فإنه يثبط غيره من الميكروبات أو يفتح الطريق لغيره وهنا يحدث الفساد نتيجة لفعل ميكروبات متعاقبة فى النشاط .

١- الخضروات و الفواكه Vegetables and Fruits

أ- الخضروات Vegetables

يمكن أن ينشأ فساد هذه المجموعة من الأغذية بفعل عوامل طبيعية أو إنزيمات النبات الداخلية أو بتأثير الميكروبات أو كل هذه العوامل مجتمعة. فعلى سبيل المثال يؤدى جرح الخضروات أو قطعها أو ضغطها أثناء التعبئة لزيادة نشاط الإنزيمات ، وكذلك دخول الميكروبات إلى الأنسجة الداخلية وكذلك إصابة النبات بمرض فطرى أو تحطيم الأنسجة بواسطة الحشرات ، ويجعل الغذاء غير صالح للاستهلاك ويفتح الطريق أمام نمو كائنات أخرى متطفلة ويؤدى تلامس الخضروات المصابة والسليمة إلى

انتقال العدوى وزيادة التلف . ويؤدى عدم توافر الظروف الملائمة عند الحصاد أو عند النقل والتسويق إلى زيادة التلف ، ويؤدى النضج الزائد إلى رخاوة الأنسجة وتعرضها للتحطيم بسرعة عند النقل وفسادها بسرعة خاصة بالجراثيم البكتيرية المسببة للعفن Rot . ويبدأ العفن فى الخضروات بعد الحصاد ثم تزداد فرصة التلوث أثناء التداول إن كانت المسافات بين موقع الإنتاج والتسويق بعيدة ثم بعد ذلك أثناء التخزين .

بالنسبة للخضروات الورقية مثل السبانخ والخس فكثيراً ما تفسد بواسطة إنزيماتها حتى بعد توقف النمو الميكروبى فهى تزبل ويتغير لونها وإذا ما غسلت أو رطبت هذه الخضر وخزنت مكدسة فوق بعضها بالغرفة ، فإن البكتريا النامية على سطوح أوراقها تنشط وتزداد فى العدد وتحدث بها لزوجة وروائح غير مقبولة وتغير فى مظهرها . وهذا لا يؤثر على صلاحيتهم للأكل ولكن يجعل منظرها غير جذاب ، ويمكن تجنب هذا بالتخزين على درجة حرارة منخفضة. إذا خزنت الخضر الورقية وهى رطبة على درجة حرارة منخفضة غير كافية لمنع الفساد ، يحدث بها لزوجة ، وإذا حفظت على درجة حرارة عالية ، فتتحلل المواد الكربوهيدراتية إلى أحماض وتصبح الخضروات حامضية والفساد الأخير يحدث كثيراً فى الخضر التى تحتوى على نسبة عالية من الكربوهيدرات كالبسلة والفاصوليا.

على عكس الخضروات الورقية القابلة للفساد ، فإن معظم الخضروات الجذرية والدرنية كالبطاطا والبطاطس والبنجر والجزر تعتبر متوسطة القابلية للفساد وهى لا تفسد إلا إذا حدث لها جرح نتيجة الإصابة بديدان الأرض أو نتيجة العمليات الزراعية أو عطب خارجى فتبدأ الإصابة والفساد وتنتشر بداخلها . ونظراً للجفاف النسبى والظروف الهوائية فإن السبب الرئيسى للفساد يكون نتيجة نمو الفطريات المسببة للعفن Rot. معظم

أنواع الفساد الشائعة تختلف باختلاف النوع والسلالة والفساد الميكروبي يرجع إما إلى الميكروبات الممرضة التي تصيب الجذور والسوق والأوراق والأزهار والثمار ، أو إلى الكائنات المتطفلة التى تغزو النبات بعد الإصابة بالميكروبات الممرضة أو تهاجم النبات السليم ويحتوى عصير الخضروات على نسبة قليلة من الحموضة والسكريات حيث يتراوح الـ PH بين ٥,٠ – ٥,٨ وهو يعتبر وسط جيد لنمو بكتريا التخمر الحامضى خاصة بكتريا حمض الكتيك وهناك أنماط لفساد نوجزها فيما يلي :

العفن البكتيرى الطرى : وتسببه ميكروبات إروينيا كاروتوفورا *Erwinia carotovora* وكذلك الأنواع التى تخمر الخضروات ويسبب نموها فقد القوام الصلب وتتخذ الخضروات والأغذية قواماً ليناً مائياً ذو رائحة كريهة .

العفن الرمادى : ويسببه فطر *Potrytis cinerea* ويفضل هذا الفطر الأوساط الرطبة الدافئة .

عفن الريزوبس الطرى : ويسببه فطر الريزوبس نجريكانز *Rhizopus nigricans* وهو عفن طرى متشعب وللفطر نمو قطنى أبيض به نقط سوداء هى الأسبورانجيات Sporangia .

عفن الألترناريا : ويسببه فطر الالترناريا *Alternaria sp* ، وتبدأ الإصابة بمناطق بنية مخضرة تتحول فيما بعد إلى بقع سوداء أو بنية .

العفن الأزرق : ويسببه فطر البنيسليم واللون الأزرق المخضر هو عبارة عن جراثيم الفطر الكثيفة .

البياض الزغبى : وتسببه فطريات البريميا والبيرونوسبورا وينمو مكوناً زغباً أبيضاً

التعفن المائى : وهو موجود أساساً فى الخضروات ويسببه فطر سكليروتينا *Sclerotina sp.*

العفن الأسود : ويسببه فطر أسبرجلس *Aspergillus sp* ويكون اللون الأسود عبارة عن تجمعات سوداء من الجراثيم .

ب- الفواكه Fruits

أغلب ثمار الفواكه لها غلاف سميك يحميها ، ولذلك فـإن أنسـجتها الداخلية غالبا ما تكون خالية من الميكروبات . والفواكه كالخضـروات قـد تصاب بفطريات العفن والبياض قبل الحصاد أو بعده ، وتسبب تعفنهـا Rot فإذا ما حدث جرح أو قطع بالقشرة الخارجية فإن فطريات العفن تبـدأ فـي النمو في هذا الموضع وتسبب الفساد وتنتشر من الخارج إلى الداخل وبـذلك تعطب الفاكهة ونظراً لأن معظم تأثيرها حامضي فإنها تفسد بالفطريات وقد يحدث أيضا تخمر كحولي بالخميرة داخل الفاكهة .

ونجد أن عصير الفاكهة ذو محتوى سـكري وحموضـة متوسـطة ورطوبة عالية فيفسد بالخميرة أكثر من الفطر فإذا ما ترك العصير بدون حفظ فإنه يتعرض للتلف بواسطة الخميرة مسببة له تخمر كحولي وقد يستمر الفساد بعد ذلك فتتأكسد الكحولات والأحماض بواسطة الخميرة الغشائية والفطريات. وقد يحدث تخمر خليكي في الظروف الهوائية بواسطة بكتريا حمض الخليـك إن وجدت ، أما تحت الظروف اللاهوائية فقد تسبب البكتريا حموضة وعكارة ومرارة بالعصير وكلها ظواهر غير مرغوبـة . كـذلك يحتـوي العصـير المستخرج من الفواكه أو المستخلص منها على نسب حموضة مختلفة تتراوح ما بين PH ٢,٤ في الليمون ، ٤,٢ في عصير الطماطم وتحتوي كل العصائر على السكر بنسب متفاوته فتتراوح ما بين ٢% في الليمون إلـى ١٧% فـي بعض أنواع العنب . وبالرغم من أن الفطريات تنمو على سطح هذه العصائر إذا تعرضت للهواء ، إلا أن نسبة الماء العالية تهيئ للخمائر والبكتريا الأسرع نمواً من الفطريات ظروف نمو أفضل .

وتعتمد السيادة لأى من هذه الكائنات في العصائر المنخفضة في السكريات والحموضة على درجة الحرارة . وإزالة الأجزاء العالقة في العصير بواسطة الاستخلاص والتصفية تزيد من جهد الأكسدة والاختزال للعصير وتشجيع نمو الخمائر. أما معظم أنواع العصير فتحتوى على نسبة سكر كافية ونسبة حموضة عالية تشجع نمو الخمائر فى درجات الحرارة المناسبة وهى من ١٥,٦ - ٣٥م ، أى أن نوع الفساد الذى يمكن أن يحدث فى العصير على درجة حرارة الغرفة هو تخمر كحولى بواسطة الخمائر متبوعا بالأكسدة إلى أحماض بواسطة الخمائر السطحية والفطريات.

أما فى درجات حرارة ٣٢,٢ - ٣٥م فإن بكتريا حمض اللاكتيك تنمو وتكون حمض لاكتيك . أما عند درجات حرارة أقل من ١٥,٦م فإن الخمائر الغريبة تنمو وكلما اقتربت درجة الحرارة من الصفر كلما سادت البكتريا والفطريات على الخمائر . ويشترك فى التخمر اللاكتيكى ميكروبات ليويكونستوك ولاكتوباسيلى ، وهى غير متجانسة من حيث نواتج التخمر وتتبع ميكروبات ليوكونوستك بالإضافة إلى حمض اللاكتيك مخاطا كثيفا . وفى بعض الفواكه كالموزفان الفساد يرجع للأنزيمات الداخلية للنبات نفسه أو نتيجة زيادة النضج وليس نتيجة الميكروبات .

٢- الحبوب ومنتجاتها Cereal and its products

تحتوى القشرة الخارجية للحبوب عند حصادها على بعض الميكروفلورا الطبيعية التى تلازمها أثناء النمو بالإضافة إلى التلوث الذى ينشأ بواسطة ميكروفلورا التربة ويحتوى الحصاد الجديد على كميات من الميكروفلورا تتراوح بين الآلاف والملايين فى كل جرام . ويبلغ تعداد الفطريات ما بين صفر ومئات الآلاف. وغالبية البكتريا الملوثة تكون من عائلات *Pseudomonadaceae, Lactobacillaceae, Micrococcaceae, Bacillaceae*

وإذا خزنت الحبوب في وسط رطب تنمو الفطريات مكونة جراثيماً كثيرة ويزال كثير من هذه الميكروبات أثناء طحن الحبوب عند التخلص من القشرة الخارجية. ويحتوى الدقيق على جراثيم بكتريا باسيلس وبكتريا القولون وكذلك بعض أنواع الأجناس أكروموباكتر وفلافوباكتريم ، والسرسينا، والميكروكوكس ، والألكاليجينس والسراتيا . وأغلب جراثيم الفطريات من الجنس أسبرجلس والجنس بنسيليم ، وأحيانا بعض جراثيم الالترناريا والكلادوسبوريم *Alternaria, Cladosporium, Penicillium* . ويختلف مقدار الميكروبات في الدقيق حسب درجة طحنه ونسبة القشرة فيه . ويعتبر سطح الخبز الطازج خاليا من الكائنات الحية الدقيقة ، إلا أن التلوث يعود عندما يبرد أو يتعرض للقطع بواسطة سكاكين التقطيع الغير نظيفة أو أن يترك مكشوف للهواء . وقد وجد أن نسبة الرطوبة أقل من ١٣% تمنع نمو كل الكائنات الدقيقة ، ولكن نسبة ١٥% رطوبة تسمح بنمو طيب للفطريات ، أما نسبة ١٧% فهى تسمح للفطريات والبكتريا بالنمو .

ويبدأ تلف الدقيق بزيادة الرطوبة بحدوث تخمر حامضي يتبعه تخمر كحولي ثم تخمر خليكي بواسطة بكتريا الأسيتوباكتر . وهذه التغيرات تحدث أكثر في الدقيق المطحون حديثا أكثر من المطحون والمخزن لفترة طويلة إذا كانت نسبة الميكروبات فيه ضئيلة . وفي غياب بكتريا حمض اللاكتيك والقولون يمكن لبكتريا ميكروكوكس إحداث الحموضة في الدقيق . أما في غياب الأخيرة فيمكن لميكروب الباسيلس أن يقوم بهذا الدور وخصوصاً تلك التي تعيش هوائية وتنتج حمض اللاكتيك والكحول والأسيتون وكميات ضئيلة من الإسترات وبعض المركبات الأروماتية .

أما بالنسبة لفساد الخبز فيكون غالباً بالفطريات وذلك لقلة الرطوبة حيث تظهر عليه مناطق ذات ألوان مختلفة نتيجة نمو تلك الفطريات . ويمكن أن

يحدث ذلك أثناء التخمير إذا ترك لفترة أكثر من اللازم بحيث تنتج كمية أكبر من الأحماض ويعتبر ذلك فساداً لطعم الخبز . وإذا كان نشاط البكتريا المحللة للبروتين كبيراً في هذه الفترة فإن ذلك سيؤدي إلى إتلاف قوام العجين المحتوى على الفراغات الغازية ويتكون ما يعرف بالعجين الثقيل . وهو ناتج عن هدم الجلوتين . وأهم فساد في الخبز بعد ذلك هو العفن الفطري والقوام المطاط .

والعفن الفطري يصيب الخبز بعد الخبيز لأن حرارة الخبيز كافية لقتل جراثيم الفطريات وغزلها الخضري . وأهم الفطريات هي فطر *Rhizopus nigricans* وهو غزل أبيض به نقط سوداء هي الأكياس الجرثومية وكذلك فطر *Penicillium expansum* ذو الجراثيم الخضراء . وفطر *Aspergillus niger* ذو الرؤوس الكونيدية التي تختلف ألوانها من اللون البني المخضر أو اللون الأسود مع ظهور بقع صفراء تنفذ إلى داخل الرغيف . أما فطر *Monilia sitophila* فيظهر نموه بلون أحمر ويمكن أن تنمو أنواع من الميوكور والجيوتريكم *Mucor & Geotrichum* وينتج الفساد بعد تعرض الخبز بعد الخبيز لتلوث شديد إما من ماكينات التقطيع أو من الهواء أو التخزين في مكان دافئ رطب وكذلك التغليف قبل أن يبرد الخبز . وتستخدم عدة طرق لمنع الفطريات وتتلخص في منع التلوث بمراعاة النظافة التامة وإبعاد بقايا الخبز المصابة بالفطريات والتخلص منها وتنقية الهواء في المخابز للتخلص من جراثيم الفطريات أو استخدام الأشعة فوق البنفسجية لقتل جراثيم الفطريات في الهواء وكذلك التبريد المفاجئ للخبز بعد الخبيز وقبل التغليف .

والقوام المطاط في الخبز فيسببه ميكروب *Bacillus subitilis* أو *B. licheniformis* وجراثيم هذين الميكروبين يقاومان حرارة الخبيز التي لا تزيد عن ١٠٠م ثم تنمو هذه الجراثيم إذا سمحت الظروف بعد ذلك بالنمو . والقوام المطاط ينشأ عن تكوين كبسولات للميكروبات مع حدوث تحلل مائي

لبروتين الدقيق بواسطة إنزيم البروتيز الذى تفرزه الميكروبات والذى يحلل بروتين الدقيق (الجليوتين) والمنطقة التى يتكون فيها القوام المطاط صفراء بنية اللون طرية ثقيلة مطاطة . ويحدث هذا الفساد إذا تعرض العجين لتلوث شديد بجراثيم المسببات السابق ذكرها وإذا تعرض العجين للتلوث من الأوانى أو أدوات التقطيع وإذا لم تكن هناك حموضة فى الحبيز وإذا تم تخزين الخبز فى وسط رطب مرتفع الحرارة . ولتجنب ذلك الفساد يجب العناية بالنظافة والتخزين فى مكان بارد نسبياً أو بإضافة مواد حافظة بنسبة ١-٥ جزء فى الألف من بربيونات الصوديوم أو الكالسيوم للعجين لمنع نمو البكتريا والفطريات.

والخبز الأحمر الدموى وهو نوع من الفساد تسببه ميكروبات *Serratia marcescens* وهذا الميكروب يكون نموات حمراء دموية على الأغذية النشوية وهو فساد نادر الحدوث . أما الخبز الجيرى وتسببه أنواع من الفطريات الشبيهة بالخمائر وتكون بقعاً بيضاء جيرية على سطح الخبز ، وهو أيضا نادر الحدوث وبالنسبة للفطائر ومنتجات المخابز الأخرى يعتبر نمو الفطريات المسبب الأساسى فى التلف ويمكن منع نموها بالتشعيع السطحى بالأشعة فوق البنفسجية أو باستخدام البروبيونات والتغليف يؤدى أيضاً إلى تقليل الإصابة بالفطريات ، إلا أن تكون مواد التغليف قد تعرضت للتلوث ويجب تغطية هذه المنتجات بورق سيلوفان لتجنب جراثيم الفطريات المحمولة فى الهواء .

يتم فى المكرونة الرطبة انتفاخ يسببه ميكروب *Aerobacter cloacae* وقد وجد أن فطر *Monilia* يتسبب فى تكوين مناطق بنفسجية على المكرونة إذا جففت على أسطح من الورق بين المكرونة ومكان الالتصاق على الورق وهذا التلف نار الحدوث .

٣- السكر والعسل Sugar and honey

إذا لم يتم تصنيع عصير القصب في الحال إلى سكر فإنه يتعـرض لتلوث شديد وأهم الميكروبات التي تلوثه هي باسيلس وكـذلك ليوكونوسـتك وكـذلك ميكروكـوكس & فلافوبـالكتريم & أكروموبـاكتر & أيروبـاكتر *Aerobacter, Achromobacter, Flavobacterium, Micrococcus, Leuconostoc, Bacillus* وكـذلك مـن الخمـائر *Saccharomyces, Candida, Pichia* .

وقد قدرت أعـداد الميكروبـات فـي العصـير بـين ٣٦,٠٠٠ ، ٥٠٠,٠٠٠,٠٠٠ / ملليلتر في فترات مختلفة ونمو الكائنات فـي العصـير يؤدى إلى تحول السكر أو هدمه ويستمر نشاط الكائنات من فترة قطع قصب السكر إلى عملية الاستخلاص والتنقية . ويتم عند هذه المرحلة قتل الخمـائر والخلايا الخضرية للميكروبات أما الجراثيم فتظل باقية في مرحلة الترسـيب والترشيح والتبخير والطرد المركزي ، إلا أنها تنقص في أعدادها. ويوجـد في السكر الخام حوالي ٤٠٠ إلى ١٩٠,٠٠٠ جرثومة في الجـرام والسـكر يحتوى عادة على نسبة رطوبة ضئيلة جداً لا تسمح بنمو الكائنات ولذا يجب تخزينه في أماكن جافة منخفضة الحرارة كما هو الحال في الحبوب . وكمـا ذكرنا يقل عدد الكائنات بالمعاملات التي تجرى على العصير للحصول على السكر . أما المشروبات الخفيفة فيجب أن تعامل معاملة خاصة لوقايتها مـن تكاثر الميكروبات مثل التشعيع بالأشعة فوق البنفسجية واسـتخدام الحـرارة وفوق أكسيد الهيدروجين معاً .

وقد تتكون حالة لزوجة وتكوين مواد صمغية لعصير القصب الخـام أو عصير البنجر المعـد للتصـنيع نتيجـة نمـو ميكروبـات *B.subtilis, Leuconostoc mesenteroids, L. dextranicum* حيـث يتحلـل السـكر

الموجود بالعصير كمصدر للطاقة ثم تكون الميكروبات كبسول من عديـدات التسكر التي تسبب اللزوجة .

ويمر الشراب والمولاس بفترة تسخين كافية وتركيـز يكفـي لقتـل الميكروبات ولكن يجب أن يتم حفظهما فى أماكن مبردة لوقـف التفـاعلات الكيماوية ونمو الميكروبات وبعض أنواع المولاس يحتوى على كمية كافيـة من ثاني أكسيد الكبريت كافية لتثبيط نمو الميكروبـات . ولا تحتـاج هـذه الأغذية نظراً لارتفاع تركيزها إلى إضافات حافظة كذلك تفسـد الحلويـات والشيكولاتة المحشوة بمادة سكرية بواسطة الخمائر والفطريات والبكتريا التى تتحمل التركيز العالي من السكر وتحدث فرقعة الشـيكولاته نتيجـة تكـون الغازات من نمو الميكروبات .

يختلف العسل في التركيب ولكنه لا يجب أن يحتوى على أكثر مـن ٢٥% رطوبة ، ونظراً لارتفاع تركيز السـكر فيـه حـوالى ٧٠ – ٨٠% معظمهم في صورة جلكوز وليفولوز . وتبلغ حموضـته مـن ٣,٢ – ٤,٢ ويفسد أساساً بواسطة الخمائر الأزموفيلية Osmophilic yeast مـن نـوع زيجو سخاروميس ميليس وكذلك التوربولا Zygosaccharomyces, Torula وقد وجدت بعض أنواع البنسليم في العسل .

٤ – اللـحـوم و الأسماك Meats and Fishes

أ- اللحوم Meats

يحتوى اللحم على معظـم العناصـر الغذائيـة الضـرورية لنمـو الميكروبات وعلى ذلك فإن فساده يكون سهلاً . وهو يحتوى على نسبة عالية من الرطوبة وتأثير متعادل لذلك فإن فساده غالباً ما يكون بكتيريـا ، فعلـى سطح اللحوم يوجد أعداداً كبيرة من البكتريا في درجة الحرارة العادية أغلبها من النوع المحلل للبروتين ، ودرجة الحرارة وتوفر الأكسجين لهما تـأثيراً كبيراً فى تعيين نوع الفساد الحادث فى اللحوم .

فعند درجة الحرارة العادية وتحت الظروف اللاهوائية يتعرض اللحم للتعفن ويكون ذلك مصحوباً بروائح كريهة ويحدث ذلك بنشاط داخل اللحم حيث الظروف لاهوائية أما تحت الشروط الهوائية فإن تحلل البروتين يصحبه حموضة خفيفة ، وبذلك فإن الطبقات السطحية تتعرض للحموضة أو إلى لزوجة خفيفة كذلك اللحم المحفوظ على درجة حرارة الثلاجة العادية يتعرض للفساد أيضا ، فإذا كان السطح رطب تنشط البكتريا المكونة للزوجة وقد يصحب ذلك حموضة ، إما إذا كان السطح جاف فإن الفطريات التعفنية تنمو عليه وبكثرة . وعند نقل اللحم من الثلاجة إلى درجة حرارة الغرفة يتكثف الماء على سطحه وهذا يشجع نمو البكتريا المسببة للزوجة . وتحت الظروف الهوائية يحدث تغير في لون اللحم فيتحول اللون الأحمر إلى اللون الفاتح أو البني بواسطة الأكسدة كيماوياً أو بكتريا بواسطة جنس *Lactobacillus* وبالإضافة إلى التغيرات البكتريولوجية فإن اللحوم المخزونة تتعرض لتغيرات بفعل أنزيماتها الداخلية ، مثل حالة التسوية Tenderizing التي تحدث في اللحم المخزون بالثلاجة ، كما أن الدهون التي في اللحوم تتعرض أيضا للأكسدة كيماويا وعند نزع أحشاء الدجاج فإن البكتريا الموجودة بها تنتشر بتجويفها مسببة سرعة فسادها إذا تركت في جو الغرفة. ومن أنواع الفساد في اللحوم الشائعة ما يلي :

أ- تكون بقع ملوثة على سطح اللحم نتيجة نمو الفطريات من :

البقعة السوداء Black spot التي يسببها فطر *Cladosporium herbarum* والبقع البيضاء White spot التي يسببها فطر *Sporotrichum carnisci* والبقع الخضراء Green patches نتيجة نمو فطر *penicillium sp.* هذه البقع لا تؤثر على الصحة ولكنها تسبب منظراً غير مقبولا ، ولتفادي ذلك تتبع الأصول الصحية في الذبح والتداول والحفظ على درجة -١٠°م .

ب- الفساد البوتشوليني : Botulism

ويسببه ميكروب *Cl.botulinum* واللحم الملوث يكون لزجاً مصحوباً بروائح كريهة وهذا الفساد يسبب أخطر أنواع التسمم للإنسان .

ج- اللحم اللاذع Sour Beef

ويرجع غالبا إلى نمو ميكروب *B.megatherium* الذى ينمو على اللحم الطازج المخزن فى الأماكن غير المهواه الدافئة نوعاً . ويتكون الطعم اللاذع نتيجة تكون أحماض عضوية ناتجة من تحلل البروتينات بدون تعفن مثل حمض الفورميك ، الخليك ، البروبيونيك ، البيوتريك وغيرها .

د- الحلقات الخضراء فى السجق Green rings in sausage

وتحدث نتيجة نمو بكتريا مثل *Lactobacillus virilencens* *lactobacillus sp* حيث تؤكسد هذه البكتريا بعض مكونات اللحم منتجة يد٢ أ٢ الذى يؤثر على لون السجق المعروف ويحوله إلى لون أخضر ، ولعلاج هذه الحالة يراعى شروط النظافة فى التصنيع والتخزين .

ب- الأسماك Fishes

الأسماك مثل اللحوم معرضة للفساد الكيماوى والإنزيمى والبيولوجى أو بها مجتمعه وينطبق عليها إلى حد كبير الأسس التى تحدد الفساد فى اللحوم . غير أن الأسماك أسرع فى الفساد من اللحوم لسرعة تحللها الذاتى بواسطة أنزيماتها ، ولأن حموضتها أقل من اللحوم وبذلك فهى أكثر تعرضاً للبكتريا، كما أن زيوتها المعرضة للأكسدة أكثر من دهون اللحم ومن أمثلة الأسماك الدهنية فى مصر سمك القراميط والثعابين . والمصدر الرئيسى للبكتريا هو الخياشيم Gills والأحشاء الداخلية Intistine والمادة اللزجة الموجودة على السطح الخارجى للسمك ، وأهم الأنواع المسببة للتلف والفساد هى *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacter* وهى أنواع شائع وجودها فى الماء وتصل الميكروبات إلى لحم السمك بالخياشيم عن طريق

الدم هذا علاوة على بعض الميكروبات الممرضة التى من أصل حيوانى مثل *E.coli, proteus spp*

وبالنسبة لفساد السمك يلاحظ أن السمك الكامل غير المنزوع الأحشاء الداخلية يحدث له تعفن على درجة الحرارة العادية نتيجة فعل الميكروبات المحللة للبروتين . السمك المنزوعة أحشاؤه أو المحفوظ فى الثلاجة العادية يحدث له تحلل ذاتى autolysis مع حموضة أو تحلل للبروتين بفعل البكتريا بدون ظهور روائح كريهة أحيانا تكون رائحة السمك الترابية قد تعود إلى نمو أنواع *Streptomyces sp* فى طين المياه محدثة رائحة وامتصاص السمك لهذه الرائحة . وقد يحدث للسمك تلون نتيجة نمو الميكروبات المفرزة للصبغات مثل *Ps. fluorescens, Micrococcus sp., Sarcina sp. and Serratia spp* كذلك وجد أن السردين الراعى Feedy sardine يفسد بسرعة عقب صيده عن السردين الصائم ، والعلاج يكون بنزع الأحشاء الداخلية للسمك عقب صيده أو تركه حيا لمدة حتى يهضم ما بأمعائه من غذاء.

وقد تفسد الأسماك المملحة بالبكتريا المحبة للملوحة ومنها :

Sarcina rosaceae, Erraitis salinaria, Micrococcus roseus

وهى تسبب أيضا تلون السمك باللون الأحمر بينما يفسد السمك المدخن أساسا بالفطريات . ومن العلامات المميزة لفساد السمك الطازج هى ظهور السطح الخارجى للسمك أقل نضارة وتصبح الأنسجة طرية وعند الضغط عليها بالأصبع لا تعود إلى ما كانت عليه ، ويصبح لون الخياشيم غير وردى كما أن العين تكون غير براقة ومعتمة وقد تتغير رائحة السمك ثم تبدأ ظهور روائح عفنة مميزة نتيجة تكون Trimethylamine وتظهر الروائح الكريهة نتيجة لتكون غاز يد$_2$ كب ، الأندول ، ن يد$_3$ وغيرها من المواد الأخرى الكريهة الرائحة Malodorous . هذا علاوة على ظهور رائحة تزنخة Rancid odor.

٥- البيض Spoilage of eggs

يعتبر البيض الطازج سليم القشرة سليم من الناحية الصحية وتخلو محتوياته الداخلية من الميكروبات ويبقى ذلك طالما بقيت القشرة جافة سليمة ويحدث التلوث للبيض عن طريق القشرة المسامية فعند ارتفاع رطوبة الجوفان ذلك يشجع دخول فطريات التعفن بواسطة هيفاتها الرقيقة إلى داخل البيضة عن طريق مسام القشرة ، وتكاثف ذرات الماء على السطح يسمح بغزو البكتريا ونموها وإحداث التغيرات . وتركيب البيض عالى فى البروتين منخفض فى الكربوهيدرات ، متعادل التأثير ، لذلك فإن أغلب تلف البيض يكون لتحلل البروتين وقد يكون التحلل تعفنياً مصحوباً بروائح كريهة أو تحلل بدون روائح وهذا يتوقف على نوع الميكروب المسبب ، وعموما فإن البيض يتعرض للفساد بالفطر والبكتريا ، وفى أثناء التخزين فإن البيض يحفظ على درجة حرارة أعلى قليلاً من التجمد (١-٢°م) وفى رطوبة نسبية من ٨٠-٨٥ % وهذه الظروف تعطى للفطر فرصة أكبر للنمو من البكتريا .

ولقد لوحظ أن بقاء البيض لمدة طويلة فى الثلاجة فإن تأثيره يتحول إلى الناحية القلوية ويحدث به تغير فى صفاته الطبيعية لأسباب غير ميكروبية فمثلاً يصبح البياض مائياً وأقل سمكاً ويعالج ذلك بسد ثقوب القشرة بالغمس فى زيت معدنى ساخن على درجة ٤٠م لعدة ثوانى ولإطالة مدة حفظ البيض يخزن بالتبريد فى جو به ك أ٢ . ومن أنواع فساد البيض الناتجة عن العفن الميكروبى Microbial rotting حيث يوجد به عفن بدون لون Colourless rot نتيجة نمو *Pseudomonas*, *Achromobacter*, coliform bacteria بينما يكون العفن الأخضر Green rot نتيجة نمو *Ps. fluorescens* وهى بكتريا تفرز صبغة خضراء بسبب إخضرار للبياض . وهناك أيضا العفن الأسود Black rot المسبب عن *Proteus sp* وفى هذا

الفساد يسود صفار البيض Yolk وتتكون روائح تعفنية كريهة لانفراد يد2 كب . علاوة على التعفن البكتيري السابق فإن هناك تعفن فطري Fungal rotting بسببه فطريات *Penicillium, Cladosporium, Sporotrichum*

ثانيا : فساد الغذاء المعامل بالحرارة Spoilage of heat treated Food

تتراوح معاملة الأغذية بالحرارة من البسترة إلى استخدام البخار تحت ضغط ، وهذه المعاملات الحرارية تؤدى إلى قتل بعض ما بالأغذية من ميكروبات ، وكلما زادت درجة الحرارة كلما زاد قتل الميكروبات ، ويتبقى بعد المعاملة الحرارية الأنواع المقاومة للحرارة العالية والجراثيم . ويلاحظ أن الجراثيم البكتيرية أكثر مقاومة للحرارة عن جراثيم الفطر والخميرة ، ولذلك فإن الأغذية المعاملة على درجات حرارة متوسطة يقتل بها معظم الخمائر والفطريات والخلايا الخضرية والبكتيرية ، بينما المعاملة على درجة حرارة أعلى مثلا ١٠٠م لمدة ٥ دقائق تقتل بها كل الخلايا الخضرية للبكتريا وكل جراثيم الخميرة والفطر وكذلك جراثيم البكتريا القليلة المقاومة للحرارة وعلى ذلك فإن نوع الفساد فى الأغذية المعاملة بالحرارة يتحكم فيه نوع الميكروبات المتبقية بعد المعاملة بالحرارة . وهذا يحدد بدرجة الحرارة والمدة المستعملة ، كما يتحكم فى نوع الفساد قدرة الميكروبات المتبقية على النمو تحت ظروف الغذاء الطبيعية والكيميائية وظروف التخزين أيضا .

١- فساد الغذاء المبستر

يتبقى بعد بسترة الألبان عدد كافي من البكتريا المنتجة للحموضة ومنها بكتريا حمض اللاكتيك وهى تسبب حموضة اللبن إذا لم يحفظ بعد البسترة مباشرة على درجة حرارة منخفضة وتفسد الأغذية المبسترة أيضا نتيجة لخلل فى عملية البسترة أو للتلوث بعد البسترة وبذلك يكون الفساد مشابها لفساد الأغذية الطازجة غير المعاملة بالحرارة .

٢- فساد الغذاء المعلب

في هذه الأغذية يقتل الميكروبات الممرضة والمفسدة على درجة حرارة تتراوح ما بين الغليان إلى البخار تحت ضغط ، وتتوقف المعاملة الحرارية على نوع الغذاء فالأغذية الحامضية تعامل بدرجة حرارة قرب الغليان بينما تعامل الأغذية غير الحامضية بالبخار تحت ضغط ، وعلى ذلك فإن الأنواع المسببة للفساد تختلف في كل وعموما فإن الأغذية المعلبة يجب أن تكون معاملتها الحرارية كافية ، وأن يحافظ على العلبة من التنفيس Leakage وتخزن تحت الشروط المناسبة. وتفسد الأغذية بسبب كيماوي أو بيولوجي – ومن أهم أنواع الفساد الكيماوي ، وهو لا دخل فيه للميكروبات ، الإنتفاخ الأيدروجيني Hydrogen swelling وفي هذا الفساد تزيد نسبه الأيدروجين عن نصف حجم الغازات المختلفة الموجودة بالعلبة على الأقل ويحدث الانتفاخ الأيدروجيني ، من تفاعل الحامض الموجود بالغذاء الحامضي مع معدن العلبة ، مثل منتجات الطماطم والصلصلة والمخلل المعبأ، ويتصاعد غاز يد٢ الذي يضغط على طرف العلبة محدثاً الانتفاخ ، ويزداد الانتفاخ بالتخزين على درجة حرارة عالية ويأخذ خطوات الانتفاخ التي تحدث في الفساد البيولوجي .

تنتج أيضا عيوب أخرى غير بيولوجية ، نتيجة تفاعل معدن العلبة مع محتواها الغذائي مثل صدأ العلبة ، تلون معدن العلبة الداخلي ، تلون الغذاء ، تكون روائح غير مقبولة ، تعكير في الشربات أو السائل المحفوظ ، ونقص في قيمة المادة الغذائية وهذه التغيرات غير مقبولة من حيث الشكل بالنسبة للمستهلك . وينتج الفساد البيولوجي من الميكروبات المتبقية بالعلبة بعد المعاملة الحرارية وقد يحدث نتيجة عدم كفاءة المعاملة أو نتيجة عدم إحكام قفل العلبة أو لحدوث تنفيس Leakage بها. فتدخل الميكروبات إلى الداخل وبذلك تصبح عملية التعقيم عديمة الفائدة ويتعرض الغذاء لكل أنواع

الفساد بالميكروبات الخضرية والمتجرثمة . وهناك ملاحظة يجب اتباعها وهي أنه عند وجود علبة غذاء معلبة منتفخة فإنه يجب عدم استهلاكها بل تعدم حتى ولو كان الانتفاخ قليلاً ، فمثل هذه العلبة علامة على فسادها فقد توجد بها ميكروبات ممرضة خطيرة قد تسبب تسمماً خطيراً إذا تم تناولها .

٣- فساد الغذاء غير الحامضي Spoilage of acidic food

تعامل هذه الأغذية بالبخار تحت ضغط ، ولذلك فإن فسادها ينتج من البكتريا المتجرثمة الشديدة المقاومة للحرارة ، ويتميز بهذه الأغذية أربعة أنواع من الفساد ثلاثة منها نتيجة لنشاط البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة والرابع نتيجة لنشاط البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة ، وأنواع الفساد هي :

١- الفساد المسطح الحامضى Flat sour

يحدث هذا الفساد غالباً في الخضروات قليلة الحموضة ، ويكون نتيجة لنمو بكتريا متجرثمة محبة للحرارة العالية ، اختيارية الهواء *Bacillus stearothermophilus* والجراثيم مقاومة للحرارة ولذلك فهي تبقى بعد التعقيم التجارى وتنشط ما لم تبرد العلب بسرعة بعد التعقيم ، وإذا ما وجد بالعلبة بكتريا مسببة لهذا الفساد من النوع المحب للحرارة المرتفعة اختيارياً ، فإنها تكون قادرة على النمو في درجة حرارة التخزين العادية مسببة للفساد .

يسمى هذا الفساد بالمسطح الحامضى نظراً لأن البكتريا المفسدة تكون حموضة بدون غازات فلا يحدث انتفاخ بالعلبة ويبقى سطحها مستوياً وغطاؤها مسطحاً ، وبذلك يكون مظهر العلبة عادياً ، ولا يمكن الحكم عليها من مظهرها الخارجي ، وإنما بالتذوق يظهر الطعم اللاذع المميز للحموضة وتنشأ الحموضة لتكون حمض اللاكتيك وقد تكون الحموضة مصحوبة بطعم غريب .

٢- الفساد الغازى Swelling

ويســمى أيضــا Thremophilic anaerobes not producing H_2S spoilage (T.A) ويسببه ميكروب *Clostridium thermosaccharolyticum* وهو ميكروب عصوى طويل متجرثم محب للحرارة العالية لاهوائى لا يكون يد٢ كب ينشط أثناء التخزين ويتسبب فى إنتاج حموضة مع كميات كبيرة من غاز أ٢ ، يد٢ تؤدى إلى انتفاخ العلبة ولذلك فإنه من الشكل الخـارجى للعلبـة يمكن ملاحظة هذا الفساد وحيث أن الانتفاخ يكون تدريجيا فإن عملية الانتفاخ تمر بالمراحل الآتية :

أ- انتفاخ أولى Flipper spoilage

وهو أول حالات الانتفاخ ، وفيه ينتفخ طرف واحـد مـن العلبـة ، ويمكن إرجاعه إلى حالته الأولى بالضغط ، ثم يعود الانتفاخ إلى أصله ثانية بالضغط على جانب العلبة .

ب- انتفاخ لولبى Springer spoilage

وفيه ينتفخ طرف العلبة ويبقى الأخر مسـتويا ، وبالضـغط علـى الطرف المنتفخ فإنه ينبسط بينما الطرف الأخر ينتفخ .

ج- انتفاخ طرى Soft swell spoilage

عندما يزداد ضغط الغاز ينتفخ طرفى العلبة ولكن الانتفـاخ يكـون طريا فيمكن ضغط الطرفين قليلا إلى الداخل .

د- انتفاخ صلب Hard swell spoilage

عندما يكون ضغط الغاز كبيرا ، ينتفخ طرفى العلبة ولكن لا يمكـن ضغطها إلى الداخل ويعقب الانتفاخ الجامد ، انفجار العلبة ويشـاهد الغـذاء على سطح وجوانب العلبة .

٣- فساد كبريتى عفن **Sulfide stinker spoilage**

ويحدث نتيجة نمو ميكروب *Cl.nigrificans* وهو ميكروب متجرثم محب للحرارة العالية لاهوائى ينتج غاز يد٢ كب حيث أنه يؤثر على بروتينات الغذاء المحتوية على كبريت . والغاز الناتج يذوب فى الماء بسهولة لذلك فإن مظهر العلب يكون عادياً فلا يشاهد بها انتفاخ . ويتفاعل غاز يد٢ كب الناتج مع حديد العلبة مكوناً كبريتوز الحديدوز الأسود (ح كب) وعند فتح العلبة نجد أن الغذاء لونه أسود ورائحته كريهة ، ويشاهد هذا الفساد كثيراً فى الذرة والبسلة المعلبة . وهذا الفساد أقل حدوثاً من النوعين السابقين لأن جراثيم الميكروب *Cl, nigrificans* أقل مقاومة للحرارة من جراثيم الميكروبات المحدثة لفساد المسطح الحامضى والفساد الغازى .

٤- التعفن **Putrefaction**

ويحدث بواسطة بكتريا متجرثمة محبة للحرارة المتوسطة لاهوائية تعفنية ، وكثيرا ما يحدث هذا الفساد فى اللحوم المعبأة وغيرها من الأغذية البروتينية نتيجة لعدم كفاءة المعاملة الحرارية . والميكروبات المسببة أغلبها يتبع جنس *Clostridium* مثل *Cl. Sporogenes, Cl.bifermentans, Cl. botulinum* ويتميز الفساد بانتفاخ العلبة بالدرجات السابق وصفها ، وتكون غازات وروائح كريهة يد٢ كب ، الأندول ، يد٣ ، ك أ٢ ، يد ٢ ، وطعم غير مقبول مع أحماض عضوية مثل حمض البيوتريك .

٤- فساد الغذاء الحامضى **Spoilage of non-acidic food**

تعامل الأغذية الحامضية المعلبة مثل عصير الطماطم ، الشربات ، المربات ، الفواكه وعصير الفواكه ، على درجة حرارة تقترب من ١٠٠م وهى حرارة قد لا تكون كافية لقتل بعض الميكروبات المفسدة على درجة الحرارة

المستعملة . وتفسد الأغذية الحامضية بأنواع مختلفة من الميكروبات منها المتجرثم ومنها غير المتجرثم المقاوم للحموضة Aciduric وكذلك الفطر والخميرة .

أ- البكتريا المتجرثمة Sporeforming bacteria

من الأنواع المفسدة *Cl. pasteurianum, Cl. butyricum, Cl.perfringens* وتسمى بكتريا حمض البيوتيريك أحياناً ، وهى ميكروبات متجرثمة لا هوائية قادرة على تحليل السكريات رتنتج غازات وأحماض ، وقد تسبب انتفاخ العلب ومن الميكروبات المفسدة أيضاً *B. thermoacidurans, B.coagulans* وهو ميكروب متجرثم محب للحرارة العالية مقاوم للحموضة ويسبب حالات فساد المسطح الحامضى وطعماً غير مرغوباً فيه .

ب- البكتريا غير المتجرثمة Non-sporeforming bacteria

تستطيع بعض الخلايا الخضرية مقاومة الحرارة وتبقى بعد البسترة ومن أهم الأنواع المفسدة بكتريا حمض اللاكتيك الكروية والعصوية وهى منتشرة بكثرة على سطوح الأغذية ، وتنمو فى وجود كمية قليلة من الأكسجين وبعضها ينتج غازا ، وتقتل على درجة حرارة أقل من ١٠٠م ومن أمثلة هذه الميكروبات *Streptococcus thermophilus, Micrococcus sp, Lactobacillus brevis, Leuconostoc Pleofructi* والأخير كروى ذو علبة يكون حموضة ولزوجة فى المحاليل السكرية ومنتجات الطماطم وتعتبر هذه الميكروبات مختلطة التخمير وينتج ك أ٢ الذى يسبب انتفاخ العلب ووجود الميكروبات الميزوفيلية يدل على شرخ وتنفيس Leakage فى العلب .

ج- الخميرة و الفطر Yeast and molds

ونظراً لأن الخميرة والفطر لا تتحملان الحرارة العالية فإنها توجد فى الأغذية المعلبة التى لم تعامل على درجة الحرارة المناسبة لو لم تأخذ مدة التسخين اللازمة أو عند حدوث تنفيس Leakage بالعلبة . وتفسد الخميرة

معلبات الفواكه والجيلي والمربى وعصير الفواكه والشربات واللبن المكثف المحلى وتسبب انتفاخ العلب نتيجة إنتاجها ك أ٢ . ويمكن للخمائر السطحية أن تنمو على معلبات المخللات واللحم المملح ويدل وجودها على سوء المعاملة الحرارية ومن الفطريات الهامة المفسدة التي وجدت في المعلبات الحامضية *Byssochlamys fulva* وهو يوجد بكثرة على سطوح الفواكه . ويتحمل الفطر النمو في وجود كمية قليلة من الأكسجين كما أن جراثيمه من أشد جراثيم الفطريات المقاومة للحرارة إذا أنها تتحمل درجة ٨٧,٨°م لمدة ١٠ دقائق والفطر يحلل المادة البكتينية اللاحمة Middle lamelle بين الخلايا فيسبب هرى الفاكهة ويحدث تلوث العلب بالفطريات في حالة تصنيعها في المنزل خاصة المربى والجيلي . ولقد وجد فطر *Penicillium* , *Aspergillus* على أغذية بها تركيز سكر يصل ٦٧,٥% ويمنع pH ٣ نمو هذين الفطرين أو بالتسخين على ٩٠°م لمدة دقيقة .

ثالثاً : التسمم الغذائي Food poisoning

أسباب التسمم الغذائي Reasons of Food Poisoning

هناك مجموعة من الأمراض تحدث للإنسان نتيجة تناول بعض الأطعمة وهذه تسمى بالتسمم الغذائي Food poisoning وهذه الإصابات تنتج عادة أو تتبع عملية تناول وجبة غذائية معينة أو مصدر غذائي عادى ملوث ، وعموما يعزى حدوث التسمم الغذائي سموم ناتجة من مصدر نباتي أو حيواني حيث يكون المصدر ملوث أصلا في الحالة الطازجة ، مواد كيماوية تصل للغذاء إما عن طريق الخطأ مثل ما يصل للغذاء من الأوعية أو عن طريق مواد حافظة تضاف بتركيزات عالية أعلى من النسب المسموح بها وفقا للمعايير الدولية . كذلك يأتي التسمم عن طريق مواد ملونة غير مصرح

باستخدامها بغرض اكساب الطعام لون جذاب ، وجود ميكروبات خطيرة بالغذاء أو سموم مفرزة من هذه الميكروبات .

وقد تكون الأعراض الناتجة من عديد من السموم متشابهة ولكن التشخيص النهائي لكل منها يعتمد على اختبارات معملية خاصة ويلاحظ أن الزمن الذى يمر من وقت تناول الطعام حتى ظهور الأعراض يختلف من سم لآخر وهو يقدر بحوالى ١٠ دقائق إلى ساعتين وذلك فى حالة السموم الكيماوية . أما بالنسبة للسموم الميكروبية فقد تطول الفترة إلى ٦ ساعات ، أما فى حالة ما إذا كان التسمم يرجع إلى الميكروب نفسه فإن الفترة تصبح من ١٢ – ٧٢ ساعة وتطول الفترة حتى تصبح من ٢ – ٣ أيام فى حالة ما إذا كان التسمم ناتجا من أكل بعض أنواع من الأغذية مثل المشروم .

ولذلك يكون هناك نوعين من المسببات الميكروبية إما أن تكون بكتريا ممرضة وهى التى تصيب الجهاز الهضمى Alimentary canal وتسبب ألاما فى المعدة والأمعاء Gastro-enteritis أو تكون بكتريا أو سمومها التى تصيب الأمعاء gut ولكنها تنتج أعراضا لتسممات مختلفة عندما تؤكل مع طعام ملوث .

البكتيريا المسببة للتسمم الغذائى Bacteria Causing food Poisoning

يمكن أن تعزى الاضطرابات المعدية والمعوية التى تنشأ عن هضم الغذاء إلى مجموعة من الأسباب مثل الإفراط فى تناول الغذاء أو فى التسمم بالكيماويات أو بالتوكسينات التى تفرزها الميكروبات أو الإصابة بالمتطفلات الحيوانية أو العدوى الميكروبية .

ويعتبر لفظ التسمم الغذائى البكتيرى Bacterial food poisoning أنه محدد للتسممات التى تنتج من تناول غذاء يحتوى بكتريا معينة أو سمومها والتى ليست موضوعة ضمن تلك المجموعة البكتيرية المسببة للعدوى بالأمراض التى أشارت إليها المراجع العالمية . وعلى سبيل المثال لتوضيح

هذا التعريف نذكر أن ميكروب الدوسنتاريا الباسيلية Dysentery bacilli قـد يؤكل مع الطعام ويسبب ما يسمى Gastro-enteritis وهى الأعراض العامـة للتسمم الغذائى البكتيرى إلا أن هذا الميكروب لا يصـنف علـى أنـه مـن ميكروبات التسمم الغذائى وذلك لأنه يسبب مرضا معروفا مميزا له .

وأن أنواع الأطعمة التى تدمج فى قائمة التسمم الغذائى تعرف بأنهـا تلك الأغذية التى تكون ملائمة لنمو الميكروبات المحدثة للتسمم ، وعلى ذلك إنها تتيح الفرصة لتواجد أعدادا كبيرة من هذه الميكروبات أو سمومها عنـد تناولها كغذاء وعموماً فإن حدوث الإصابة بالتسمم الغذائى غالباً مـا تشـمل عدد كبير من الناس الذين تناولوا هذا الطعام المسمم .

الخلايا البكتيرية أو نواتجها كمسببات للتسمم الغذائى :

Bacterial cells or their products as causes of food poisoning

فى هذا النوع من التسمم الغذائى فإنه لا تحدث أى إصابة للأمعـاء بالميكروب نفسه ولكن الخلايا البكتيرية أو سمومها الخارجية تعطى أعراض التسمم الغذائى عندما تهضم أو تدخل مع الطعام ، وحيث أن السموم تمتص بواسطة جدار الأمعاء على ذلك تسمى Enterotoxins وهذه السموم تتكـون فى الغذاء نتيجة نمو هذه الميكروبات به ، وعلى الـرغم مـن أن الخلايـا الخضرية للميكروبات يمكن قتلها بالحرارة عند تسخين الغذاء قبل تناوله إلا أن عديد من السموم تعتبر متوسطة المقاومة للحرارة فإنها تبقى به لتحـدث أعراض التسمم الغذائى عندما تؤكل ، ومن أكثر التسممات الغذائية البكتيرية أهمية هى التى تحـدث مـن سـموم سـلالات معينـة متخصصـة مـن *Cl.botulinum, Staphylococcus aureus* والميكـروب *Cl. botulinum* غالبا ما يحدث تسمماً مميتاً وهو الذى يسمى بالبوتيولزم كما وأن سلالات من *Cl. perfringens* قد تحدث تسمماً غذائيا كما أن أنواعاً معينة من ميكروبات غير ممرضة مثل *proteus spp* والتى عادة لا تعتبر سامة قد تحدث Acute

gastro enteritis آلاما حادة فى المعدة والأمعاء عندما تؤكل مع الطعام بأعداد وفيرة .

السموم الميكروبية Microbial toxins

وهى إما سموم بكتيرية أو فطرية أو طحلبية وتقسم السموم الميكروبية حسب طبيعة إنتاجها إلى سموم خارجية Exotoxins أو سموم داخلية Endotoxins

أ- السموم الخارجية Exotoxins

وهذه يدخل ضمنها تلك السموم التى ينتجها ميكروبات التسمم البوتشولينى ، التيتانوس والغرغرينا والدفتريا وبعض أنواع من الشيجلا واستربتوكوكاى

Botulism, tetanus, gasgangrene, diphtheria and some species of *Shigella* and Haemolytic *Streptococci* and *Staphylococci*

وهذه السموم تفرز بسهولة من الخلايا إلى الوسط المحيط فى البيئة الغذائية وتتميز هذه السموم بأن لها صفات سمية مختلفة كما أنها مؤثرة بكميات ضئيلة . وهذه لها مميزات الإنزيمات فهى تحلل المكونات الهامة والضرورية من خلايا النسيج أو العضو الذى تصل إليه . ولابد وأن تمر فترة من الزمن بين حقن هذه السموم فى الجسم وحتى يحدث التسمم وهذه تختلف من عدة دقائق كما فى حالة سموم *Staphylococci* إلى عدة ساعات أو أيام كما فى حالة سم Botulinum كما تمتاز السموم الخارجية بأن لها صفات مختارة أى أنها متخصصة فى إصابة أعضاء خاصة أو أنسجة معينة من الجسم . كما وأنه من الناحية الكيماوية نجد أن السموم الخارجية تنتمى إلى مواد ذات طبيعة بروتينية وهذه السموم ضعيفة الثبات لتأثير الضوء والأكسجين ، حيث تتدهور على درجات ٦٠ - ٨٠م / ١٠ - ٦٠ دقيقة وعند الغليان تتحطم تماما وفى الحال ، وفى حالة الجفاف نجد أنها أكثر ثباتا

للحرارة العالية والضوء والأكسجين ولا تتأكسد بسرعة ، ويراعى أنه عند إضافة السكروز للسم يزيد مقاومته للحرارة كما أن هذه السموم مثل سم

Cl. botulinum, Cl. perfringens pathogenic staphylococci

لا يمكن تكسيرها فى المعدة أو الأمعاء وبالتالى تسبب التسمم . توكسين الدفتيريا بمعاملته بالفورمالين ٠,٣ - ٠,٤% على ٣٨ - ٤٠م فإنه خلال ٣٠ - ٤٠ يوم يفقد سميته ويصبح غير سام .

وبعض التوكسينات الخارجية مثل توكسين الدفتريا والغرغرينة الغازية تتكسر بواسطة انزيمات الهضم أو أن هذه التوكسينات تصبح عديمة المفعول إذا وصلت عن طريق الفم أما التوكسينات مثل توكسين البوتولين والاستافيلوتوكسين فلا يتأثران ويؤديان إلى حدوث التسمم عن طريق الفم ، وقد أمكن فى السنين الأخيرة تحضير توكسينات نقية من الدفتريا والبوتولين والتيتانوس بواسطة الترسيب عند نقطة التعادل الكهربى وإعادة الترسيب بحمض ثلاثى كلوروخليك عند درجات حرارة منخفضة ورقم pH ٤,٠ مع الترسيب بالتمليح بواسطة سلفات الأمونيوم والإدمصاص على أعمدة الكروماتوجرافيا . وقد وجد أن التوكسين النقى يفوق فى درجة سميته التوكسين الخام وتتفاوت السموم النقية فى درجة سميتها فتوكسين البوتولين أقوى ٢٥ مرة من توكسين الدفتريا لنفس الكمية .

ب- السموم الداخلية Endotoxins

إن الميكروبات المسببة لحمى الأمعاء Enteric fever البارانيفويد ، والدوسنتاريا والسيلان وكثير من الأنواع السالبة لجرام لا تنتج سموماً خارجية ولكنها تحتوى على سموماً داخلية Endotoxins. وهذه السموم الداخلية تكون أكثر تماسكاً وارتباطاً بجسم الخلية البكتيرية ولها طبيعة خاصة مثل طبيعة مركبات جدار الخلية البكتيرية وهى أقل سمية من السموم الخارجية وتؤثر على النمو إذا أخذت بكميات كبيرة ، كما أن فترة تأثيرها وهى الفترة التى

تمضى من وقت حقنها حتى ظهور الأمراض تقاس عادة بالساعات كما أنهـا ضعيفة التخصص أى أنها تحتاج لفترة لطول لإحداث التسمم.

ومن الناحية الكيماوية نجد أن السموم الداخلية تنتمى إلى مجموعـة الـ Lipo-glucoside والسكريات العديدة أو معقد الفوسفوليبيد مع البـروتين Phospholipoprotein وهى ثابتة حراريا Thermostable فقـد وجـد أن بعض السموم الداخلية يمكنها أن تقاوم الغليان أو المعاملة فى الأوتـوكلاف على ١٢٠م لمدة ٣٠ دقيقة وفى المعاملة بالفورمالين على درجات حـرارة عالية نسبياً نجد أنها تصبح غير ضارة جزئياً حيث تفقد كثيراً من سميتها .

التسمم الغذائى العنقودى Staphylococcal food poisoning

هو التسمم الناشئ عن التوكسين المعوى الذى تفرزه بكتريا والـذى يسبب التهاب الأغشية المبطنة للمعدة والأمعاء والميكـروب المسـبب هـو *Staphylococcus aureus* وقد اكتشفه R.koch عام ١٨٧٨ وأمكن عزلـه أخيراً من الدمامل الصغيرة التى تظهر على الجلد بواسطة L. Pasteur عام ١٨٨٠ ووصف خلاياه بأنها كروية الشكل قطر الخلية مـا بـين ٠,٨ – ١ ميكرون وتكون تجمعات غير منتظمة تأخذ شكل العناقيد وإذا مـا حضـر غشاء من الدمامل أو من المزارع فإن الميكروب يظهر فى سلاسل قصـيرة أو فى شكل أزواج أو خلايا منفردة كروية ، كما قد تظهر أشكال مختلفة مثل الـ G.forms, L.forms أو غيرها فى حالة فحص المزارع التى سـبق أن تعرضت لمعـاملات طبيعيـة أو كيماويـة أو حيويـة وميكروبـات الـ Staphylococci يمكن تمييزها عن بعضها حسب اختلاف الصبغات التـى تميز كل منها حيث تتميز كل سلالة بلون معين والتى يمكن تسميتها حسـب لون الصبغة حيث أن golden Staphylococcus تميـز *Staph . aureus* ، *White Staphylococcus* تميـز *Staph . albus* بينمـا Lemon-yellow تتميز *Staphylococcus citreus*

ولقد وجد أن الميكروب المسبب ينمو في تجمعات عنقودية أو في أزواج أو في سلاسل قصيرة ونمواته على البيئة الصلبة صفراء أو ذهبية أو عديمة اللون في بعض السلالات ، وكل السلالات المنتجة للتوكسين موجبة لاختبار إنزيم الكواجيوليز Coagulase test وهي اختيارية هوائية ، تنمو في وجود الهواء أفضل من نموها في عدم وجوده . وبالرغم من أن كل السلالات المنتجة للتوكسين موجبة لاختبار الكواجيوليز إلا أن كل السلالات الموجبة لهذا الاختبار من جنس ستافيلوكوكس ليست منتجة للتوكسين . وبعض السلالات المنتجة للتوكسين تتحمل درجات ملوحة عالية تقارب درجة التشبع ، وهي تتحمل أيضا نسباً كبيرة من السكر الذائب وهي ميكروبات محللة للبروتين ، مخمرة ، إلا أنها لا تنتج روائح كريهة في الأغذية ، وكذلك لا تحول مظهر الغذاء .

لذلك نجد كثيراً من حالات التسمم الغذائي بالـ Staphylococci ترتبط مع استخدام اللبن ومنتجاته مثل القشدة المستخدمة على التورتات والحلويات المستخدم في إنتاجها اللبن مثل الكسترد Custards وكذلك استخدام اللحوم المجهزة كما في حالة الفطائر وشرائح اللحم المطبوخة حيث أن هذه الأغذية مفضلة للميكروب لحدوث تكاثر سريع متبوعاً بإنتاج السم في ظروف الجو الدافئ إذا لم يتم حفظ هذه الأغذية في الثلاجات . وفي حالة اللبن الغير مبستر قد يصل الميكروب إليه عن طريق ضرع الحيوان حيث أن الـ Staphylococci يوجد غالباً على جلد الإنسان والزور فإنه يكون هناك فرص عديدة لحدوث تلوث الغذاء أثناء التجهيز والإعداد ومن أنواع الـ Staphylococci ما هو قادر على إنتاج سموم داخل الأمعاء Enterotoxins والتي لا تتكون بكميات معنوية إلا إذا بلغ العدد البكتيري ما بين ١٠ ^{٥} – ١٠ ^{٦} لكل جرام واحد من الغذاء . وتنتج ميكروبات ستافيلوكوكس أربعة أنواع سيرولوجية للتوكسين تعرف بالأنواع A, B, C,

D وتختلف هذه الأنواع في درجة سميتها وغالبية أنواع التسمم الغذائي تنتج من النوع A. ويمكن أن يقال أنه كلما كان الغذاء مناسباً لنمو هذه الميكروبات وكلما كان المجال الحرارى الذى تعيش فيه متوفراً ، وكذلك مجال تركيز أيون الهيدروجين ومعامل نشاط الماء المناسب لتكاثرها متسعا كلما كان مناسبا لإنتاج التوكسين . وبالتالى فإن درجة الـ pH الدنيا للنمو فى وجود الهواء ٤,٨ ، ٥,٥ فى عدم وجوده . أما معامل نشاط الماء فهو ٠,٨٦ فى وجود هواء و٠,٩٠ فى عدم وجوده .

التسمم البوتشولينى Botulism

هو تسمم ينشأ من تناول طعام يحتوى على سم خارجي ويسببه ميكروب *Clostridium botulinum* وهذا لا يحلل الألبيومين بينما *Cl. parabotulinum* فهو محلل للألبيومين وقد اكتشف هذا النوع من التسمم فى هولندا فى عام ١٨٩٦ وقد عزل من لحم الخنزير حيث كان سبباً فى إصابة عدداً كبيراً من الناس بهذا التسمم كما وجد أيضاً فى أوروبا نتيجة تناول سجق Sausages حيث كان سببا فى حدوث هذا التسمم ولكن فى أمريكا كان السبب تناول خضروات معلبة وفى روسيا ظهر هذا النوع نتيجة تناول السمك الأحمر Red fish الملوث بالميكروب .

ويمتاز الميكروب بأنه عصوى كبير بنهايات مستديرة نتيجة وجود جرثومة طرفية منتفخة وطول الميكروب حوالى من ٣ – ٨ ميكرون وعرضه ما بين ٠,٥ – ٠,٨ ميكرون كما أنه قد يوجد أحيانا فى شكل قصير أو خيوط طويلة وهو ميكروب متحرك بطئ ويوجد على الخلية حوالى من ٤ – ٣٠ فلاجيلا فى الظروف الخارجية نجد أنه يكون جراثيم بيضاوية طرفيه أو قريبة من الطرف Terminal or subterminal وبذلك تأخذ الخلية شكل مضرب التنس Tennis rackets والميكروب موجب لجرام لاهوائى حتماً ينتج غازات فى الوسط الغذائى ودرجة الحرارة المثلى للسلات A, B, C &

D هى ٣٤ – ٣٥م أما بالنسبة للنوع Type E هـــى ٢٥ – ٢٨م وجميعهـــا تنمو على البيئات العادية التـــى لهـــا ٧,٦ – ٧,٣ pH . الميكـــروب ينـــتج Exotoxin وينتج السم سواء فى المزرعة أو فى الغذاء مثل اللحوم والسمك والخضروات فى الظروف المناسبة كما أنه ينتج داخـــل جســـم الإنســـان أو الحيوان على حد سواء . ويلاحظ أن تكاثر الميكروب وكذا تراكم السم يمكن تثبيطه فى وجود حوالى ٦ – ٨% من ملح الطعام (ص كل) أو فى البيئات الغذائية ذات تفاعل حامضى. كما أن التسخين على درجة ٩٠م / ٤٠ دقيقـــة أو الغليان / ١٠ق فإنها تحطم السم تماماً .

يعتمد إنتاج التوكسين فى هذه الميكروبات على إمكانيات المعيشة فى الغذاء . ويبدو أن إفراز التوكسينات من الأنواع A, B يتم أولا فى صـــورة جزيئات غير نشطة تتحول إلى جزيئات شديدة السمية إذا تعرضت للتحليـــل المائى بعض الشئ. والعوامل التى تؤثر على إنتاج التوكسين بوجه عام هى تركيب الغذاء وخصوصاً محتواه من الجلكوز أو المـــالتوز. وكـــذلك نســـبة الرطوبة وتركيز أيون الهيدروجين وجهد الأكسدة والاختزال للبيئة ومحتوى الغذاء من الأملاح ودرجة الحرارة التى يحفظ عليها .

التسمم السالمونيللى Salmonellosis

تسمى العدوى ببعض سلالات السالمونيلا أحيانا تسمماً غـــذائياً لأن مظاهر الإصابة تشابه تلك التى تنشأ من التسمم بتوكسين الاســـتافيلركوكس. وهذا بالإضافة إلى أن بداية المرض عادة ما تكون وبائية فى عائلات بأكملها أو مجموعات كبيرة من الناس. وذلك لأن الميكروب يكون قد تكاثر بأعـــداد كبيرة فى الأغذية ، فى حين أن الإصابة بالميكروبات المعويـــة الممرضـــة الأخرى التى تسبب الدوسنتاريا والتيفود والباراتيفود تحتاج إلى فترة تحضين أطول باستثناء الحالات الوبائية .

والسالمونيلا ميكروب عصوى قصير سالب للصبغ بجرام ، لا يكون جراثيماً ، يخمر الجلكوز مكوناً غازاً ولا يخمر اللاكتوز والسكروز. وينمو الميكروب فى مجالات حرارة وحموضة أكبر كلما كانت البيئة أكثر ملائمة . ويكفى لقتل الميكروب حرارة ٦٦م لمدة ١٢ دقيقة على الأقل واحتمال العدوى بغذاء يحتوى على السالمونيلا يعتمد على مقاومة المستهلك للعدوى بسلالة معينة . وهناك بعض السلالات الضعيفة التى يلزم للعدوى بها وجود مئات الملايين من الميكروب ، بل البلايين لإحداث العدوى من السالمونيلا. فى حين توجد أنواع أخرى من السالمونيلا إنتريتيدس يكفى وجود حوالى مليون ميكروب لإحداث العدوى . ولا تحدث السالمونيلا فى كثير من الأطعمة تغيرات تذكر فى الطعم والرائحة والقوام وهذا سبب خطورتها حيث لا يوجد أى ظواهر تمنع المستهلك من تداول الغذاء الملوث .

يعتبر الإنسان والحيوان المصدر الأساسى للميكروب سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة وأحياناً تأتى الميكروبات من القطط والكلاب والخنازير وتعتبر الدواجن والبيض مصدراً مهما ، وتعيش هذه الميكروبات فى القولون . ويعتبر بيض الدجاج المجفف أو المجمد أو السائل حاملاً للميكروب . ويمكن أن تسبب الفئران المصابة تلوثا فى الأغذية الغير معتنى بتخزينها لتعرضها لمخلفات الفئران ، وتحتوى الأغذية المكونة من اللحم أو من السمك أو من مشتقاتها أحياناً على ميكروبات السالمونيلا. وعندما تقدم هذه الأغذية كعلائق للحيوانات الأليفة تصبح مصدراً للعدوى للأطفال التى تلامس هذه الحيوانات الأليفة . وأهم ما يميز هذا المرض هو طول فترة التحضين والتى تبلغ ١٢ – ٢٤ ساعة وأحياناً تصل ٧٢ ساعة وتتمثل أعراض هذا المرض فى القئ ، آلام البطن الإسهال المفاجئ ، صداع ورعشة برودة . كذلك يدل على المرض البراز المائى المخضر ذو الرائحة الكريهة. الضعف العام وشحوب اللون وضعف العضلات علاوة على ارتفاع درجة الحرارة .

الفصل الخامس عشر :
ميكروبيولوجيا التربة الزراعية

ميكروبيولوجيا التربة الزراعية

Soil Microbiology

علم ميكروبيولوجيا الأراضى هو واحد من أهم فروع علم الميكروبيولوجيا والذى يختص بدراسة النشاط الميكروبى وكذلك العلاقات المتبادلة بين الميكروبات والأراضى . وكذلك العلاقات التى تنشأ بين الميكروبات والنباتات وذلك بهدف الوصول إلى خصوبة عالية للتربة الزراعية وكذلك الظروف المثلى اللازمة للحصول على أعلى إنتاجية للنباتات المنزرعة .

وتعتبر التربة جسماً وسطاً مالئاً بالحياة نظراً لما تحتويه من الكائنات الحية الدقيقة وغير الدقيقة ذات التأثير المباشر على خواصها الطبيعية والكيماوية والحيوية . ومن ناحية أخرى فإن أعداد ونشاط هذه الأحياء وخاصة الدقيقة منها تتأثر بالخواص الطبيعية والكيماوية للتربة . ويمكن القول أنه لولا تواجد الميكروبات لتوقفت الحياة على سطح الأرض حيث تقوم هذه الميكروبات بدوراً هاماً فى المحافظة على خصوبة التربة . ذلك من حيث قدرتها على إمداد النباتات بما تحتاجه من عناصر غذائية وذلك عن طريق معدنتها للمواد العضوية وتثبيتها لنيتروجين الهواء الجوى وكذلك تيسيرها للعناصر الغذائية غير الميسرة فى التربة وإفرازها لكثير من مواد النمو . كما تلعب الميكروبات دوراً هاماً فى المحافظة على التوازن البيولوجى فى الكون بإنتاجها لثانى أكسيد الكربون خلال عملية تحلل المواد العضوية مما يعمل على تعويض النقص الناتج من عملية التمثيل الضوئى للنبات . كما تلعب الميكروبات أيضاً دوراً فعالاً فى تحليل المبيدات الزراعية وملوثات التربة . وتحت ظروف خاصة قد ينشأ تنافس شديد بين الميكروبات والنبات على العناصر الغذائية المتواجدة فى التربة فى صورة صالحة

للنباتات . كما تقوم بعض الميكروبات بإفراز مواد سامة تؤثر على نمو النباتات أو تسبب أمراضاً لها مما ينعكس سلباً على إنتاجيتها . ونناقش في هذا الجزء وباختصار شديد العوامل المؤثرة على نمو ونشاط الكائنات الحية الدقيقة فى التربة ثم نلقى الضوء على مكونات المجتمع الميكروبى بالأراضى وكذلك دور هذه الكائنات فى تحولات بعض العناصر الغذائية الهامة فى التربة وتأثير ذلك على خصوبة التربة وإنتاجية المحاصيل .

أولاً : العوامل المؤثرة على النمو الميكروبى

تحتوى التربة على مجتمع متنوع من الكائنات الحية الدقيقة منها البكتيريا بأجناسها وأنواعها المختلفة والأكتينوميسيتات والفطريات والطحالب والبروتوزوا وكذلك الفيروسات ويتحكم فى أعداد ونشاط هذه الكائنات الكثير من العوامل والتى من أهمها :

رقم الحموضة :

تتأثر ميكروبات التربة من حيث أعدادها ونشاطها تأثيراً كبيراً بدرجة الحموضة (الـ pH) حيث وجد أن معظم أجناس بكتيريا التربة تستطيع أن تعيش فى درجة الحموضة القريبة من التعادل والتى تتراوح قيمتها من ٦ إلى ٨ . بينما يؤدى إرتفاع أو إنخفاض قيمة الـ pH عن هذه الدرجة إلى التأثير على نشاط وأعداد هذه البكتيريا . أما فى الأراضى الحامضية فتسود الفطريات وتقل أعداد البكتيريا كما تتراكم المواد العضوية ، وكذلك فى حالة الأراضى القلوية تتوقف الكثير من العمليات الحيوية الهامة ويحدث نقص شديد فى أعداد الميكروبات .

الرطوبة :

تتأثر أعداد الميكروبات فى الأراضى الزراعية بما تحتويه من الرطوبة . ولقد وجد أن نسبة الرطوبة الملائمة لنمو الميكروبات هى تلك التى تتراوح ما بين ٥٠-٧٠% من السعة الحقلية (WHC) . وزيادة الرطوبة عن

هذه الدرجة يكون ذات تأثير عكسي حيث تقل نسبة الهواء لحد كبير مما يؤثر تأثيراً ضاراً على أعداد الميكروبات الهوائية بالأراضي بينما تـزداد أعـداد الميكروبات اللاهوائية والتي تعمل على التحليل غير الكامل للمواد العضـوية منتجة مركبات وسطية ذات تأثير سام على النباتات . ومن ناحية أخرى فـإن تعرض الأراضي للجفاف يؤدى إلى قتل الكثير من الميكروبات وعند تعرض الأراضي لفترة جفاف طويلة فلا يتبقى إلا أنواع الميكروبات المقاومة للجفاف والتي تمثل نسبة قليلة من المحتوى الميكروبي الكلي بالأراضي .

التهوية :

تختلف ميكروبات التربة من حيث إحتياجاتها الهوائية وبالتالي فهـي تختلف في مدى تأثيرها بالتغيرات التي تحدث في تركيب هواء التربة . حيث نجد من ميكروبات التربة الزراعية الهوائية حتماً Strict aerobes وهي التي لا تنمو إلا في وجود الأكسجين واللاهوائية حتماً Strict anaerobes وهـي تلك التي لا تنمو إلا في غيـاب الأكسـجين . كمـا أن منهـا الإختياريـة Fucltative microbes وهي تلك التي لا تتأثر بوجود أو غياب الأكسـجين ومنها تلـك التـي تحتـاج لنموهـا إلـى كميـة قليلـة مـن الأكسـجين Microaerophiles . وعندما تسود الظروف اللاهوائية في التربة فإنها تكون ذات تأثير سيئ على النشاط البيولوجي عموماً حيث أن النسبة الغالبـة مـن ميكروبات التربة تعتبر هوائية كما أنه تحت الظروف اللاهوائية تتوقف كثير من العمليات الحيوية المؤثرة على خصوبة التربة والمرتبطة بنمو النبات .

المادة العضوية :

يتأثر معدل النشاط البيولوجي في التربة تأثيراً كبيراً بمحتواها مـن المادة العضوية حيث أنها تعتبر المخـزن الرئيسـي لإمـداد الميكروبـات بإحتياجاتها الغذائية . كما تتأثر الميكروبات بنوعية المادة العضوية السـائدة في التربة وتركيبها الكيماوي . حيث وجد أن المواد العضوية المحتوية على

نسبة عالية من المادة الكربوهيدراتية تشجع الأنواع المحللة لها كمحللات النشا والسليلوز أو البكتين . أما المادة العضوية ذات النسبة العالية من المواد البروتينية فإنها تشجع تواجد الأجناس والأنواع المحللة للبروتينات فى التربة وذلك لما تمتلكه كل مجموعة ميكروبية من نظم إنزيمية متخصصة .

القوام :

يؤثر القوام السائد للتربة الزراعية على الأحياء المتواجدة بها كماً ونوعاً ، حيث يؤدى القوام الطينى الثقيل إلى سيادة الظروف اللاهوائية فى التربة الزراعية كما يقلل من سرعة تحلل المادة العضوية فيها نتيجة إدمصاص الكثير منها على حبيبات الطين مما يؤدى إلى قلة النشاط الميكروبى . بينما القوام الخفيف يؤدى إلى سيادة الظروف المناسبة للنشاط الميكروبى الأمثل أما فى حالة التربة الرملية فإن النشاط البيولوجى فيها يكون ضعيفاً وذلك لفقرها فى العناصر الغذائية والمواد العضوية وقلة قدرتها على الإحتفاظ بالرطوبة .

الملوحة :

تؤثر ملوحة التربة على أعداد الميكروبات بها تأثيراً سيئاً ولذلك فإن تقليل الملوحة فى التربة بتكرار الغسيل تحسن من العمليات الحيوية كما تؤدى إلى زيادة أعداد الميكروبات .

العمليات الزراعية :

يصاحب إعداد الأراضى للزراعة الكثير من العمليات الزراعية مما يؤثر على أعداد الأحياء الدقيقة بها تأثيراً إيجابياً . فعملية تجهيز التربة للزراعة وكذلك عمليات الحرث والعزق تحسن من البناء وتهوية التربة مما يزيد من النشاط الحيوى بها . كما أن تعاقب زراعة المحاصيل من خلال الدورة الزراعية يكون ذات تأثير كبير على النشاط الميكروبى بالتربة كما

ونوعاً نتيجة لإختلاف هذه المحاصيل فى إفرازات جذورها وكذلك لإختلاف هذه الجذور فى مدى تعمقها وإنتشارها فى التربة من محصول لآخر .

ثانياً : مكونات المجتمع الميكروبى

تحتوى التربة الخصبة على أعداد ضخمة من الكائنات الحية الدقيقة تشتمل على أنواعاً عديدة ، وهذ الأعداد تكون فى تغيير مستمر مما يعطى صورة ديناميكية للنشاط البيولوجى فى الأراضى حيث ينشأ بينها العديد من صور التعاون والتضاد . ولقد وجد أن الأراضى الخصبة تحتوى على المجموعات الميكروبية الرئيسية مثل البكتيريا والأكتينوميستات والفطريات والطحالب والبروتوزوا وكذلك الفيروسات ويتحكم فى أعداد هذه الكائنات توازن بيولوجى تؤثر فيه العوامل البيئية المختلفة . وفى هذا الجزء نلقى نظرة سريعة على مدى إنتشار وأهمية وأعداد أهم هذه المجموعات فى التربة .

البكتيريا Bacteria

تعتبر البكتيريا أكثر المجموعات الميكروبية إنتشاراً فى التربة من حيث أعدادها وأنواعها وكذلك نشاطها وما تقوم به من عمليات بيولوجية وتغيرات حيوية هامة . ويزداد هذا النشاط خاصة فى الأراضى المتعادلة أو التى تميل قليلاً ناحية القلوية .

ومن ناحية طرق تقدير أعداد البكتيريا فى الأراضى فقد استخدمت طرق كثيرة أهمها الطريقة الميكروسكوبية المباشرة وطريقة العد بالأطباق ولكل طريقة من هذه الطرق مميزاتها وعيوبها . ولقد وجد أن أعداد البكتيريا فى الأرض الواحدة تختلف حسب الطريقة المستخدمة فى العد وكذلك طريقة أخذ العينة ووقت أخذها والأعماق التى تؤخذ منها . وعموماً تعطى الطرق الميكروسكوبية أعداد أعلى بكثير من الطرق المزرعية حيث وجد أن أعداد البكتيريا المقدرة بالطريقة الأولى تصل إلى $١٠^{٩}$ مستعمرة / جرام تربة وتعتبر هذه الأعداد كبيرة جداً إذا ما قورنت بالأعداد المتحصل عليها بطريقة

العد بالأطباق والتي تعطي أعداداً تصل إلى مئات الملايين في كل جرام من التربة الخصبة .

أما من ناحية نوعية الميكروبات السائدة في التربة فإنه يمكن القول وقياساً على نتائج العد البكتيري في الأطباق أن البكتيريا المتجرثمة من جنس *Bacillus* تتواجد في كل أنواع الأراضي بكميات كبيرة أما الأنواع الأخرى فإنها تتواجد بكميات أقل . كما وجد أن التربة تحتوي على أنواع متعددة من البكتيريا تختلف في نظم حصولها على الطاقة فمنها ما يستطيع استخدام أكسجين الهواء الجوي مباشرة مثل الأنواع التابعة لجنس *Bacillus* وأنواع بكتيرية أخرى كثيرة . ومنها ما يحصل على الطاقة نتيجة تفاعلات كيماوية إختزالية مثل بكتيريا إختزال النترات والكبريتات . ومن الأجناس واسعة الإنتشار في الأراضي جنس *Arthrobacter* حيث لوحظ تواجده بنسب تصل إلى ٣٥% من المستعمرات التي تظهر في أطباق العد . كما لوحظ وجود بعض الأنواع التابعة لأجناس *Pseudomonas* ، *Corynebacterium* ، *Erwinia* بنسبة عالية في التربة وأيضاً تبين وجود نسب لا بأس بها من الأنواع التابعة للأجناس التالية *Mycobacterium* , *Clostridium* , *Micrococcus* , *Protues* , *Escherichia* , *Enterobacter* *Agrobaterium* , *Flavobacterium*

ولقد وجد أن أعداد البكتيريا تقل كلما إبتعدنا عن سطح التربة حتى تصبح نادرة على بعد متر واحد تقريباً ، كما يقل تواجدها أيضاً كلما زادت الحموضة ، وفي هذه الحالة تزداد الأنواع المتجرثمة . كما وجد أن الرطوبة تشجع تزايد أعداد البكتيريا في التربة وإذا زادت درجة التشبع في التربة عن ٨٠ % من السعة المائية يقل تواجد البكتيريا الهوائية وتزداد البكتيريا اللاهوائية مثل جنس *Clostridium* . كما تتأثر أعداد البكتيريا بالتسميد حيث تصل إلى أعلى أعداداً لها عند التسميد بالأسمدة العضوية والمعدنية معاً كما

يزيد التسميد المعدنى وحده من تعداد البكتيريا أيضاً فيبلغ تعـداد البكتيريـا أقصاه عند التسميد بكبريتات الأمونيوم + الجير حيث أن إضافة الجير يعادل الحموضة الناتجة من استخدام كبريتات الأمونيوم كما أنه يحسن من تهويـة التربة لتأثيره على تجميع حبيباتها .

الفطريات Fungi

وهى تلى فى أعدادها فى التربة كل من البكتيريا والأكتينوميسـيتات وعلى الرغم من ذلك فإنه فى التربة الخصبة جيدة التهوية تمثل الفطريـات الجزء الأكبر من الوزن الكلى للبروتين الميكروبى نظراً لكثرة هيفات الفطر وصغر حجم الخلية البكتيرية .

ولقد وجد أن أعداد الفطريات فى التربة يتأثر بكثير من العوامل فنظراً لكون هذه المجموعة مـن الكائنـات الحيـة الدقيقـة غيـر ذاتيـة التغذيـة (هتيروتروفية) فإنها تتواجد بكثرة فى المناطق التى تحتوى على مادة عضوية بوفرة مثل الأراضى العضوية . كما أنه نظراً لإحتياج الفطريات إلـى كميـة كبيرة من الأكسجين حيث أنها هوائية فإن معظم الفطريات تسود فى الطبقـة السطحية من التربة ، وتقل كلما تعمقنا لأسفل . أما من حيث تأثير بناء التربة فقد وجد أن أعداد الفطريات تزداد كلما كان البناء مفككاً وكذلك وجدت زيـادة فى أعدادها كلما بعد الماء الأرضى كما تزداد أعداد الفطريـات أيضـاً كلمـا زادت الثقوب الناتجة من ديدان الأرض فى التربـة . أمـا بالنسـبة لدرجـة الرطوبة فقد وجد أن أعداد الفطريات تزداد كلما قلت نسـبة الرطوبـة فـى الأرض كما أن درجة pH التربة تكون ذات تأثيراً هاماً على أعداد الفطريات حيث وجد أن أعدادها تزداد مع زيادة الحموضة حتى درجة pH ٥,٨ إلا أنـه أمكن إنماؤها فى المزارع النقية على درجة pH تتراوح بين ١-٣ .

ولقد استخدمت طرق كثيرة لدراسة أعداد الفطريات وتقدير نشاطها فى التربة ووجد أنه ليس هناك طريقة واحدة لدراسة الفطريات فى التربة يمكن أن

تعطى صورة دقيقة لمدى إنتشارها ونشاطها . ولقد وجد أن أعداد الفطريات بإستخدام طريقة العد بالأطباق تتراوح بين ٢٠٠٠٠ إلى مليون مستعمرة / جرام تربة خصبة ، وإن كانت هذه الطريقة تتعرض لكثير من النقد حيث أن المستعمرات التى تظهر على الأطباق قد تنتج من جرثومة ساكنة أو جزء من الميسليوم وعلى ذلك فإن وجود أنواع من الفطريات السريعة فى تكوين الجراثيم فى التربة ينتج عنه أعداداً كبيرة عند العد بالأطباق .

أما عن دور الفطريات فى التربة فقد وجد أن للفطريات دوراً كبيراً فى مقاومة النيماتودا كما وجد أن بعض الفطريات لها القدرة على إنتاج مضادات الحيوية Antibiotics . وكذلك تعلب الفطريات دوراً هاماً فى تحليل بعض المواد المعقدة فى التربة مثل البكتين والسليلوز والدهون واللجنين كما تلعب دوراً هاماً فى معدنة النيتروجين العضوى ولها دوراً أساسياً فى تكوين الدبال Humus . كما تقوم مجموعة فطريات الميكوريزا Mycorrhiza بدوراً هاماً فى حياة بعض النباتات خصوصاً أشجار الغابات والتى تعتمد على هذه الفطريات فى التغذية حيث تقوم الفطريات بعمل الشعيرات الجذرية على جذور النبات العائل حيث تساعد النبات على إمتصاص الماء والغذاء والملاح المعدنية مثل الفوسفور والكالسيوم والبوتاسيوم والنحاس والحديد . هذا علاوة على أن بعض الفطريات يسبب الكثير من الأمراض الخطيرة لكثير من النباتات .

الأكتينوميسيتات Actinomycetes

هى مجموعة من البكتيريا الخيطية الموجبة لجرام وإن كانت تدرس كمجموعة مستقلة نظراً لأهميتها الخاصة ودورها الهام فى التربة . وهذه المجموعة واسعة الإنتشار وهى تلى البكتيريا فى أعدادها وإن كانت هذه الأعداد تختلف كثيراً حسب نوع التربة وكذلك حسب الظروف الطبيعية أو الكيميائية المحيطة . ولقد وجد أن طريقة العد بالأطباق تعطى أعداداً

للأكتينوميستات غالباً ما تتراوح بين ٥١٠ - ٨١٠ مستعمرة / جـم تربـة . وهذه المجموعة الميكروبية تستطيع إستخدام العديد من المواد كمصدر للكربون والطاقة منها المواد البسيطة ومنا المركبات شديدة التعقيد . وتعتبر قدرة هـذه المجموعة على تحليل الكيتين Chitin صفة مميزة لها كما تستطيع تحليل كثير من المواد الغريبة والتى تصل إلى التربة مثل البرافينات والسترويدات كما أن منها أنواعاً قادرة على تحليل المبيدات التى تصل إلى التربة أيضاً . وبدراسة دور ونشاط هذه الكائنات الهامة فى الأراضى وجد أنها أبطأ فى نموها من كل من البكتيريا والفطريات حيث لوحظ أن نشاطها يبدأ بصورة فعالـة بعـد أن تكون البكتيريا والفطريات قد قامت بتحليل المادة العضوية فـى التربـة إلـى درجة تسمح بنمو الأكتينوميسيتات . وهذه الظاهرة لها أهميتها حيث أنه فـى حالة توفر ظروف ملائمة للنشاط الميكروبى فى التربة مثـل إضـافة مـواد عضوية بها مكونات سهلة التحلل يظهر التنـافس بـين ميكروبـات التربـة بوضوح. ونظراً لبطء هذه المجموعة فى نموها فإن قدرتها على التنافس تكون محدودة وبالتالى فإن أعدادها تقل فى الفترات الأولى للتحلل .

ومع نقص المواد السهلة من المادة العضوية المضافة تبدأ أعداد هـذه المجموعة فى الزيادة وتصبح لها السيادة حيث تستفيد من قدرتها على تحليـل المواد المعقدة . وبالرغم من أن هذه المجموعة معروفة منذ فترة طويلة إلا أن أهميتها قد زادت بعد أن عرف أن كثير منها ذات قدرة كبيـرة علـى إنتـاج مضادات الحيوية Antibiotics والتى لها أهمية كبيرة فى علاج الكثيـر مـن الأمراض . وعموما فهذه الميكروبات تلعب دوراً ذو أهمية خاصة فى التربـة حيث تقوم بتحليل المواد المعقدة فى البقايا النباتية والحيوانية وتحويلهـا إلـى الصورة الصالحة لتغذية النبات . كذلك لها دور فعـال فـى تكـوين الـدبال Humus عن طريق إحداث تحولات فى المواد العضوية المضـافة للتربـة .

تقوم بدور فعال فى التحولات التى تحدث فى درجات الحرارة المرتفعة مثـل تلك التى تحدث فى أكوام السماد العضوى النباتى والحيوانى . بعضها يسـبب أمراضاً نباتية مثل الجرب العادى فـى البطـاطس Streptomyces scabies. تستطيع تجميع حبيبات التربة عن طريق هيفاتها مما يزيد من خصوبة التربـة عن طريق تحسين تهويتها . هذا علاوة على إعطاء التربة الرائحة الخاصة بها وذلك نتيجة لإفرازها لمركب Geosmin . مضادات الحيوية التى تفرزها قـد يكون لها دوراً هاماً فى التوازن الميكروبى فى التربة . كذلك بعض الأجناس التابعة لهذه المجموعة يكون لأفرادها دوراً هاماً فى خصوبة التربة من حيـث قدرتها على تثبيت النيتروجين الجوى مثل أفراد جنس Frankia والتى تستطيع تكوين عقد جذرية على النباتات البقولية خاصة الأشجار مثل أشجار الكازورينا

الطحالب Algae

هى كائنات وحيدة الخلية ممثلة للضوء توجد فى التربة تحتـوى علـى نسبة كبيرة من الرطوبة وتنمو فى الطبقة السطحية نظراً لإحتاجها للضوء وهى ذاتية التغذية (أوتوتروفية) حيث تحصل على الطاقة اللازمة لها خلال عمليـة التمثيل الضوئى . وتكون أعداد الطحالب أقل من البكتيريـا والأكتينوميسـيتات والفطريات . ويمكن تقدير أعدادها فى التربة باستخدام طريقة العـد التقريبـى باستخدام بيئة غذائية معدنية خالية من الكربون وتحتوى على العناصر اللازمـة لنمو الطحالب وذلك فى الضوء لمدة ٤-٦ أسـابيع . ولقـد بينـت الدراسـات المعملية أن أعداد الطحالب فى الطبقة السطحية من التربة تتراوح بـين ١٠٠-٥٠٠٠٠ مستعمرة / جرام تربة . ومن حيث أهميتها فى التربة فقـد لـوحظ أن إضافتها إلى تربة يفيد النبات وقد أمكن تعليل ذلك بأن الطحالب تقـوم بإنتـاج مركبات عضوية وتثبيت العناصر والأملاح المعدنية . كما تقوم بتدعيم التربـة ضد عوامل التعرية . كما أن بعض الأنواع التابعة لمجموعة الطحالب الخضراء المزرقة كتلك التابعة للجنس *Nostoc* وغيرها مثل طحلب *Anabaena* يمكنهـا

تثبيت أزوت الهواء الجوى والذى يحسن من خصوبة التربة . كما وجد أيضا أن نمو الطحالب فى أراضى الأرز وقيامها بعملية التمثيل الضوئى يعطى كميات كبيرة من الأكسجين اللازمة لتنفس الجذور . ولقد وجد أن الأراضى الزراعية تحتوى على مجموعات من الطحالب الرئيسية مثل الطحالب الخضراء Chlorophyceae والطحالب الخضراء المزرقة Cyanophyceae والدياتومات الطحالب العصوية Bacillariophyceae وكذلك الطحالب الخضراء المصفرة الذهبية *Xanthophyceae* .

وتسود الطحالب الخضراء والدياتومات على باقى أنواع الطحالب الأخرى بأراضى المناطق المعتدلة بينما تسود الطحالب الخضراء المزرقة فى أراضى المناطق الحارة . كما تسود الطحالب الخضراء مثل الكلاميدوموناس *Chlamydomonas* والكلوريللا *Chlorella* فى الأراضى الحمضية حيث يمكنها تحمل درجة عالية من الحموضة تصل حتى pH ٣,٧. بينما فى الأراضى القلوية فتسود الطحالب الخضراء المزرقة حيث وجد أن بعض الأنواع التابعة لجنس *Anabaena* وكذلك جنس *Nostoc* تتواجد فى الأراضى الجيرية ، وتقل هذه الأنواع فى الأراضى الحمضية لدرجة أنها تختفى من الأراضى ذات الحموضة الأقل من pH ٥,٠ .

البروتوزوا Protozoa

هى كائنات حيوانية وحيدة الخلية تقسم حسب طبيعة حركتها إلى أربعة أقسام منها ما يتحرك بالأسواط (السوطيات Flagellates) ومنها ما يتحرك بالأقدام الكاذبة (الأميبا Amoeba) كما أن منها ما يتحرك بالأهداب (سلياتا Ciliates) ومنها عديم الحركة . ويتبع الأقسام الثلاثة الأولى أنواعا تعيش فى التربة بعكس الأنواع الغير متحركة والتابعة للقسم الأخير . ولقد وجد ان البروتوزوا تتواجد فى التربة بأعداد قليلة حيث تكثر فى الطبقة العليا

من التربة وتقل أعدادها مع العمق كما تتوقف أعدادها على ظروف التربــة خاصة محتواها من المادة العضوية والرطوبة والتهويــة . وعمومــاً فــإن أعدادها تتراوح ما بين ١٠-٣٠٠ ألف / جرام تربة ، ولقد لوحظ أن التسميد المعدنى والعضوى يزيد من أعداد البروتوزوا فى التربــة . والبروتــوزوا تعيش فى التربة إما مترممة على المواد العضوية الميتة أو تلتهم الميكروبات الأخرى والأصغر حجماً وأكثرها من البكتيريا . ولقد لوحظ أنه إذا أضــيفت بعض البروتوزوا إلى التربة فإن أعداد البكتيريا تتناقص كما أن هذا التناقص يكون فى حالة إضافة السوطيات أعلى منه فى حالة إضافة الأميبا .

ثالثاً : التحولات الميكروبية للعناصر

دورة الكربون Carbon cycle

يعتبر الكربون العنصر الأساسى الذى يدخل فى بناء جميــع الخلايــا الحية ، ولقد وجد أن أنسجة النباتات والحيوانات وكذلك الكائنات الحية الدقيقــة تحتوى على كربون بنسبة تصل ما بين ٤٠-٥٠% من الوزن الجاف . ويعتبر مصدر الكربون فى الكون هو غاز ثانى أكسيد الكربون الموجود فى الهــواء الجوى بنسبة تصل إلى ٠,٠٣% . ويتحول CO_2 إلى الصورة العضوية عــن طريق نشاط الكائنات الحية ذاتية التغذية الضوئية Photoautotrophes مثــل النباتات الخضراء الراقية والطحالب بأنواعهــا وكــذلك البكتيريــا الضــوئية والسيانوبكتيريا Cyanobacteria وذلك من خلال عمليــة التمثيــل الضــوئى Photosynthesis حيث تقوم هذه الكائنات باختزال CO_2 وتثبيــت الكربــون داخل أجسامها فى صورة مركبات عضوية . ولقد قدرت كميــة CO_2 التــى تستهلك بواسطة الغطاء الخضرى للقشرة الأرضية خــلال عمليــة التمثيــل الضوئى بحوالى ٩٠ بليون كيلو جرام فى السنة وهذه الكمية تعادل تقريباً ٧٠ % من CO_2 الجوى الحر . ويصاحب عملية التمثيل الضوئى التى تقوم بهــا

النباتات الخضراء إنطلاق الأكسجين حيث تستخدم الماء كمصدر للأيدروجين فى إختزال CO_2 . ومن ناحية أخرى فإن الكربون العضوى المثبت داخل أجسام الكائنات الحية الممثلة للضوء أو المثبت فى أنسجة الحيوانات التى تتغذى على بعض هذه الكائنات فى صورة أنسجة حية يكون فى صورة غير قابلة لإفادة النباتات Immobilized إلا بعد أن يعود إلى صورته الأولى . ولا يتم ذلك إلا بعد موت هذه الكائنات وتحول انسجتها الحية إلى مادة عضوية وعندما تصل هذه المواد العضوية إلى التربة أو تضاف إليها فإنها تتعرض مباشرة للنشاط البيولوجي . حيث تقوم الميكروبات غير ذاتية التغذية Heterotophes الموجودة فى التربة بتحليلها للحصول على الطاقة أو لتمثيل مكوناتها لبناء أنسجة ميكروبية جديدة ويصاحب ذلك إنطلاق كمية كبيرة من ثانى أكسد الكربون . وتسمى هذه العملية بالمعدنة Mineralization وهى تلك العملية التى يتحول فيها الكربون العضوى إلى ثانى أكسيد الكربون بيولوجياً . وعملية إختزال ثانى أكسيد الكربون وتحوله إلى الصورة العضوية من خلال عملية التمثيل الضوئى وتثبيته فى صورة أنسجة حية داخل أجسام الكائنات Immobilization ثم إنطلاقه مرة أخرى من خلال عملية المعدنة Mineralization يطلق عليها ما يسمى بدورة الكربون Carbon cycle وهى التى تدور حول تحولات الكربون بين الصورتين العضوية والمعدنية من خلال عمليتى الإختزال والمعدنة لعنصر الكربون فى الطبيعة .

إختزال ثانى أكسيد الكربون

يعتبر الأكسجين المنطلق من عملية التمثيل الضوئى القوة الدافعة الأولى فى دورة العناصر الهامة بيولوجياً فى الطبيعة حيث أن خلال عملية التمثيل الضوئى يتحول الكربون المؤكسد CO_2 إلى الصورة المختزلة فى صورة مركبات عضوية داخل أنسجة النبات ويصحب ذلك إنطلاق الأكسجين.

والكربون المؤكسد الميسر لعملية التمثيل الضوئى هو ثانى أكسـيد الكربـون الجوى أساساً والذى لا تتعدى نسبته ٠,٠٣% من حجم الهواء . وهذا المستوى يكون ثابتاً تقريباً من خلال التوازن الديناميكى بين عمليتى التمثيـل الضـوئى Photosynthesis ومعدنة المواد العضوية Mineralization. ويمكن التحقـق من أهمية دور الكربون فى الطبيعة بالنظر فى كمية CO_2 الموجودة بالجو .

المعدنة Mineralization

تصل المادة العضوية إلى التربة من مصادر عديدة أهمها البقايا النباتيـة مثل أوراق النباتات المتساقطة وقلف الأشجار وكذلك الجذور وإفرازاتها . كمـا يتبقى بالتربة نسبة كبيرة من البقايا النباتية بعد حصاد المحاصيل خاصة الجذور. ومن ناحية أخرى تضاف المواد العضوية النباتية فى صورة أسمدة سواء مـن مصادر نباتية أو حيوانية . ولقد وجد إختلاف التركيب الكيماوى للبقايا النباتيـة إختلافاً كبيراً من نبات لآخر . وعلى العموم فإن البقايا النباتية التى تصل إلـى التربة تحتوى على مركبات عضوية رئيسية تشـمل السـليلوز والهيميسـليلوز واللجنين والبروتين والأحماض النووية والرماد والليبيدات والزيـوت والشـموع بنسب مختلفة . هذا بالإضافة إلى بعض المواد القابلة للذوبان فى المـاء والتـى تتضمن أحماضاً أمينية وعضوية وسكريات بسيطة وغيرها والتى تقل نسبتها مع تقدم النبات فى العمر كما ترتفع نسبة المواد المعقدة . وعندما تصل هذه المـواد العضوية إلى التربة فإنها تتعرض مباشرة للنشـاط البيولـوجى حيـث تقـوم الميكروبات غير ذاتية التغذية الهتيروتروفية بتحليلها للحصول على الطاقـة أو لتمثيل مكوناتها لبناء أنسجة ميكروبية جديدة ويصاحب ذلك إنطلاق كمية كبيرة من CO_2 ويسمى ذلك بعملية المعدنة والتى تقترن بإختزال الأكسجين الجزيئى . ويقوم بعملية المعدنة الكثير من الأجناس والأنواع الميكروبية غير ذاتية التغذيـة وغالباً ما تتم هذه العملية على مرحلتين. المرحلة الأولى هـى إحـداث تفكـك لجزيئات المركبات العضوية المعقدة وتحويلها إلـى مركبـات بسـيطة وهـى

الوحدات البنائية لها ، وتتم هذه الخطوة عن طريق إنزيمات التحلل المائي المفرزة ميكروبيا . أما المرحلة الثانية فهي أكسدة هذه الوحدات البنائية باستخدام الأكسجين الحر وتكون النتيجة هي أكسدة الكربون العضوي وخروجه في صورة CO_2 . أما الأكسجين فيختزل ويظهر في صورة ماء ، والمرحلة الأولى يقوم بها العديد من الميكروبات أما المرحلة الثانية فتحتاج غالباً إلى نوع من التخصص . وفي الظروف الهوائية فإن كثيراً من الفطريات والبكتيريا الهوائية والأكتينوميسيتات تقوم بأكسدة كاملة للمواد العضوية ويكون CO_2 هو الناتج النهائي . ولو أن هذه الميكروبات تلجأ دائماً لبناء خلايا جديدة عن طريق تمثيل جزء ليس بالقليل من الكربون وعناصر المادة العضوية المتحللة . وبذلك تتم عمليتي المعدنة Mineralization وهي تحلل المادة العضوية وأكسدتها للحصول على الطاقة وعملية التمثيل Immobilization وهي بناء خلايا ميكروبية جنباً إلى جنب والمحصلة النهائية هي الأكسدة الكاملة للمادة العضوية . أما تحت الظروف اللاهوائية فإن المركبات العضوية تتحلل جزئياً منتجة مركبات وسيطة من بينها CO_2 وبعض الأحماض العضوية .

تكوين الدبال Humus

بعض البقايا العضوية سواء نباتية كانت أو حيوانية أو ميكروبية الأصل تقاوم التحلل وتترسب في نهاية مراحل التحلل لتكون ما يسمى بالدبال Humus . وهو مادة ذات تركيب معقد أكثر ثباتاً في تحللها وهي ذات لون غامق وذات طبيعة غروية وغير محددة التركيب الكيماوي . وهو يعتبر مرحلة ثبات بيولوجي ولذلك تتوقف عملية التحلل على عدة عوامل طبيعية وكيميائية مثل الحرارة والرطوبة والـpH ووفرة الأكسجين . وبغض النظر عن كمية المادة العضوية التي تضاف للتربة سنوياً فقد بينت الدراسات أن نسبة الدبال ثابتة إلى حد كبير في التربة الزراعية بمعنى أن النقص الناتج من تحلل

الدبال فى أى تربة يعادل معدل التكوين السنوى له . ولقد وجد أن الدبال هام جداً لخصوبة التربة حيث أنه يعتبر المخزن الذى تستمد منه الميكروبات غذائها سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة . ونتيجة للتحلل يحدث معدنة لما به من عناصر غذائية ضرورية للنبات ، كما يلعب الدبال دوراً أساسياً فى تحسين بناء التربة المفككة عن طريق تكوين الحبيبات وكذلك تحسين التهوية فى الأراضى الثقيلة . كما يساعد على زيادة إحتفاظ الأراضى الخفيفة بالماء بالإضافة إلى أن المواد العضوية الدبالية لها قدرة عالية على ربط وتبادل الأنيونات والكاتيونات مما يجعلها مصدراً هاماً لكثير من العناصر المعدنية اللازمة للكائنات الحية .

دورة النيتروجين Nitrogen cycle

يعتبر النيتروجين من العناصر السمادية الأساسية فى تغذية النبات بجانب بعض العناصر الأخرى مثل الفوسفور والبوتاسيوم بل يعتبر أهمها على الإطلاق حيث يعتبر المكون الأساسى لجزئ البروتين . وهذا العنصر يكون عرضه لكثير من التغيرات البيولوجية فى التربة كما أنه يتعرض للفقد بالتطاير والغسيل بالماء وبالتالى يجب ملاحظة مستواه فى التربة دائماً للحفاظ على خصوبتها . حيث أن إنخفاض مستواه فى التربة عن الحد اللازم للنباتات يؤثر تأثيراً سلبياً على غلة المحصول . وعلى الرغم من أن الهواء الجوى يحتوى على نسبة كبيرة جداً من النيتروجين تصل إلى أكثر من ٧٩% من حجمه إلا أن هذا العنصر الغازى يعتبر خاملاً كيميائياً Inert gas ولا يصلح كمصدر غذائى بالنسبة لمعظم الأحياء سواء نباتية كانت أو حيوانية أو حتى الكائنات الحية الدقيقة . حيث تحتاج إليه هذه الأحياء فى صورة نيتروجين متحد مثل الأمونيا أو النترات أو النيتروجين العضوى بإستثناء مجموعة قليلة من الكائنات الحية الدقيقة يمثلها بعض البكتيريا وبعض الطحالب الخضراء

المزرقة Blue green algae يمكنها إستخدام النيتروجين الغازى عن طريق تثبيته داخل أجسامها فى صورة عضوية Immobilization . ويضاف النيتروجين إلى التربة فى صورتين إحداهما عضوية والأخرى غير عضوية فى صورة مركبات معدنية . وتشمل الصورة العضوية البقايا النباتية والأسمدة الخضراء والسماد العضوى الصناعى Compost بالإضافة إلى البقايا الحيوانية مثل السماد البلدى الذى يحتوى بول وروث الحيوانات وكذلك مخلفات السلخانات وسماد المجارى وغيرها . أما الصورة غير العضوية فتضاف إلى التربة فى صورة أسمدة نوشادرية أو نيتراتية أو سيناميد وغيرها . تتعرض مركبات النيتروجين للعديد من التغيرات الحيوية التى تؤثر على مدى قابليتها لإستفادة النبات ، ويمكن حصر هذه التغيرات فى الآتى :

معدنة النيتروجين العضوى Organic nitrogen mineralization

تبدأ مهاجمة الكائنات الحية الدقيقة للمركبات العضوية النيتروجينية ويتم تحليلها بواسطة هذه الكائنات ويكون الناتج النهائى لعملية التحلل هو الأمونيا . ولهذا فإن هذه العملية يطلق عليها اسم النشدرة Ammonification ولو أن جزء من الأمونيا المتكونة يمثل داخل أجسام الميكروبات القائمة بعملية التحليل بقصد بناء خلايا جديدة والتى تسمى بعملية التمثيل Immobilization إلا أن الجزء الأكبر من النيتروجين ينطلق حراً على صورة نوشادر وحتى الخلايا الميكروبية التى تكونت ينطلق محتواها من النيتروجين بعد موتها .

وأول خطوة فى عملية النشدرة هى تحليل البروتينات والأحماض النووية والسكريات الأمينية مائياً بواسطة إنزيمات التحلل المائى والتى تفرزها الميكروبات وهذه الإنزيمات تقوم بتكسير السلسلة الببتيدية المكونة لجزئ البروتين وتتكون الأحماض الأمينية طبقاً للمعادلة الأتية :

بروتين – بروتيوز – ببتون – عديدات الببتيد – ثنائى الببتيد – أحماض أمينية

ثم تحلل هذه الأحماض الأمينية المتكونة تحت ظروف هوائية أو لاهوائية ويكون الناتج في النهاية هو النيتروجين النوشادري . وتحت الظروف اللاهوائية فإن تحلل البروتينات لا ينتج عنه دائماً النوشادر أولاً بل ينتج عنه بدلاً منها الأمينات التي تتأكسد تحت الظروف الهوائية وينطلق عنها الأمونيا. ويطلق على عملية تحلل البروتينات تحت الظروف اللاهوائية التعفن Putrefaction وتتم هذه العملية بواسطة بكتيريا غير هوائية مكونة للجراثيم تابعة لأفراد جنس *Clostridium* . والميكروبات التي تقوم بعملية النشدرة تتواجد بأعداد كبيرة في التربة وهي أيضا ميكروبات متنوعة منها الهوائية العصوية المتجرثمة وغير المتجرثمة والكروية وكذلك بعض الأكتينوميسيتات والكثير من الفطريات . كما أن منها بعض الأنواع غير الهوائية المحللة للبروتين والتابعة للجنس كلوستريديم *Clostridium*

التأزت Nitrification

التأزت أو النترتة هي عملية تحويل الأمونيا الناتجة من تحليل المركبات العضوية النيتروجينية بفعل عملية النشدرة أو المضافة للتربة في صورة أسمدة معدنية نوشادرية بالأكسدة الميكروبية إلى نيتريت Nitrite ثم نترات Nitrate . وهذه العملية تتم على خطوتين تقوم بهما مجموعتين متخصصتين من البكتيريا حيث تتم الخطوة الأولى بأكسدة الأمونيا إلى نيتريت ويطلق على هذه الخطوة اسم Nitrosofication وذلك طبقاً للمعادلة الآتية $2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + Energy$ أما الخطوة الثانية فيتم فيها أكسدة النيتريت إلى نترات طبقاً للمعادلة التالية

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + Energy$$

ويقوم بعملية التأزت أو النترتة مجموعة من أجناس البكتيريا تختلف فيما بينها إختلافا واسعا في شكلها المورفولوجي فمنها العصوي والكروي

والحلزونى ومنها غير المتحرك أو المتحرك بسوط واحد أو عدة أسواط ولكنها جميعاً تشترك فى كونها سالبة لجرام غير متجرثمة ذاتية التغذية هوائية وتحصل على طاقتها من أكسدة الأمونيا أو النيتريت .

وهذه الأجناس تنقسم إلى مجموعتين حسب طبيعة عملها الأولى أفرادها تؤكسد الأمونيا إلى نيتريت وتضم خمسة أجناس هى : *Nitrosomonas* ; *Nitrosococcus* ; *Nitrosovibrio* ; *Nitrosolobus* ; *Nitrosospira* . أما المجموعة الثانية التى أفرادها تؤكسد النيتريت إلى نترات تضم ثلاثة أجناس هى : *Nitrobacter* ; *Nitrococcus* ; *Ntrospira* ولقد وجد أن أكثر الأجناس الثمانية السابقة شيوعا بالأراضى هما جنسى *Nitrosomonas* ، *Nitrobacter*

إختزال النترات وإنطلاق الأزوت Nitrate reduction and denitrification

تنشط مجموعة كبيرة من البكتيريا فى التربة الغنية بالمادة العضوية وتقوم بتحليلها وتستهلك فى نشاطها كمية كبيرة من الأكسجين مما يؤدى إلى سيادة الظروف اللاهوائية نتيجة لتنفس هده البكتيريا . وتحت هذه الظروف يبدأ نشاط مجموعة أخرى من البكتيريا هى البكتيريا اللاهوائية فى إختزال النترات الموجودة بالتربة وهذا يحدث عن طريق إختزال النترات Nitrate reduction $NH^{+}_{4} \longrightarrow NO^{-}_{2} \longrightarrow NO^{-}_{3}$ ويلاحظ أن هذه العملية عكس عملية التأزت تماماً . والعملية الحيوية الثانية هى إنطلاق الأزوت العنصرى Denitrification $N_2 \longrightarrow NO^{-}_{3}$ وفى هذه الحالة تختزل النترات إلى نيتروجين عنصرى حيث يصبح هو الناتج النهائى وعليه فإن سيادة عملية إنطلاق الأزوت العنصرى تكون مصحوبة بفقدان مركبات النيترويجن المعدنية وظهور النيتروجين الغازى بدلاً منها . وتقوم بهذه العملية مجموعة من البكتيريا غير المتخصصة حيث يستطيع الكثير منها

تحت الظروف العادية تحليل وإحداث عملية النشدرة وغيرها من العمليات الحيوية فى التربة . وتحت الظروف اللاهوائية تقوم تلك المجموعات البكتيرية غير المتخصصة بعمليات إختزال النترات وهى بالتالى تعتبر ميكروبات إختيارية فى إحتياجاتها الهوائية . ولقد لوحظ أن خاصية إختزال النترات لم تشاهد بين أنواع الفطريات والأكتينوميسيتات .

تثبيت النيتروجين Nitrogen fixation

رغم أن النيتروجين الغازى الذى يمثل النسبة الكبرى من حجم الهواء الجوى أو ذلك الذى ينطلق نتيجة إختزال النترات يعتبر غير مناسب لمعظم الأحياء كغذاء إلا أنه يستعمل بواسطة أفراد قليلة من الميكروبات كمصدر غذائى للنيتروجين . ويطلق على هذه الميكروبات اسم الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوى وعن طريق نشاط هذه المجموعة الميكروبية المتخصصة يمكن تعويض النقص فى نسبة النيتروجين سواء تلك التى دخلت فى بناء أنسجة جديدة أو تلك التى تفقد بواسطة عملية إنطلاق الأزوت . وفى الحقيقة فإن البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوى تنقسم إلى مجموعتين رئيسيتين هما :

البكتيريا التكافلية Symbiotic bacteria

وهى البكتيريا التى تقوم بتثبيت النيتروجين الجوى بطريقة تكافلية والتى تتميز بوجود نظام تبادل للمنفعة بين أنواع معينة من النباتات البقولية بتخصصية عالية وأفراد تلك المجموعة والتى تقع ضمن سبعة أنواع تكون تابعة لجنس *Rhizobium* . وهذا النوع من التكافل أو تبادل المنفعة يتم داخل تراكيب خاصة تسمى بالعقد الجذرية Root nodules تكونها هذه البكتيريا على جذور نباتات العائلة البقولية ولذلك تسمى هذه البكتيريا ببكتيريا العقد الجذرية Root nodules bacteria . وتسمى مجموعة النباتات البقولية التى يغزوها نوع واحد من البكتيريا العقدية باسم المجموعة تبادلية التلقيح Cross

inoculation group . فهناك مجموعة البسلة التى تضم الفول العادى والعدس والنوع المكون للعقد البكتيرية على هذه المجموعة هو *Rhizobium leguminosarum* وبالمثل هناك مجموعة البرسيم الحجازى ويغزوها ميكروب *R. meliloti* ومجموعة الفاصوليا ويغزوها ميكروب *R. phaseoli* ومجموعة فول الصويا ويغزوها ميكروب *Bradyrhizobium japonicum* ومجموعة الترمس ويغزوها ميكروب *R. lupine* وأخيراً مجموعة اللوبيا ويغزوها ميكروب *Bradyrhizobium* sp. . ومن ناحية أخرى يوجد جنس يتبع الأكتينوميسيتات وهو جنس *Frankia* وجميع أفراده لها القدرة على تثبيت النيتروجين الجوى بطريقة تكافلية فى عقد ولكن على جذور نباتات غير بقولية كما فى أشجار الكازورينا . كما يوجد أيضاً نوع من التكافل بين الطحالب الخضراء المزرقة السيانوبكتيريا Cyanobacteria وبعض النباتات معراة البذور كما فى السيكاس .

البكتيريا اللاتكافلية Non-symbiotic bactria

وهى البكتيريا التى لها القدرة على تثبيت النيتروجين الجوى بطريقة حرة فى التربة الزراعية ويمثل هذه المجموعة عدد كبير من الميكروبات يمكن ذكرها فى الأتى :

بكتيريا غير ذاتية التغذية Heterotophic bacteria

منها البكتيريا الهوائية ويمثلها مجموعة الأجناس التابعة لعائلة Azotobacteriaceae وأهمها جنس *Azotobacter* ويتبعه النوع *A. chroococcum* وهو النوع الذى يكثر إنتشاره فى معظم الأراضى . ومنها أيضاً البكتيريا ذات الإحتياجات القليلة من الأكسجين والتى يمثلها مجموعة الأجناس التابعة لعائلة Spirillaceae وأهمها جنس *Azospitillum* وهذا الجنس يثبت النيتروجين فى الحالة الحرة أو بالتعاون مع جذور بعض النباتات النجيلية حيث وجدت أفراده على سطوح الجذور أو فى الصفيحة الوسطى لخلايا الجذور

ولذلك يطلق عليه تعبير مثبت للنيتروجين شـبه تكـافلى Semi-symbiotic N-fixer . كما أن منها البكتيريا الإختيارية ويمثلها بعض أفراد الجـنس *Bacillus* وكذلك الأجناس التابعة لعائلة Enterobacteriaceae ويتبعهـا أيضـا بعـض البكتيريا غير الهوائية مثل بعض الأنواع التابعة للجنس *Clostridium* .

بكتيريا ذاتية التغذية Autotrophic bacteria

وتشمل البكتيريا ذاتية التغذية وهـى Cyanobacteia أو الطحالـب الخضراء المزرقة Blue geen algae مثل أجناس *Anabaena* ; *Nostoc* ; *Anabaenopsis* ; *Aulosira* ; *Galothrix* ; *Tolypothrix* . كذلك البكتيريا الممثلة للضوء ويمثلها أجناس *Rhodopseudomonas* ; *Rhodomicrobium* *Chlorobium* ; *Rhodospirillum* ; *Chromatium*

وكل البكتيريا السابقة تثبت النيتروجين الجوى داخل أجسامها علـى صورة مركبات نيتروجينية عضوية مثل الأحماض الأمينية . ويمكن القـول عموما أن تثبيت النيتروجين بالطريقة التكافلية يكون أكثـر فعاليـة تحـت ظروف خاصة عن التثبيت بالطريقة الحرة . ومما سبق يتضح الدور الهـام للكائنات الحية الدقيقة فى تحولات المركبات النيتروجينية بما تشمله من معدنة للمواد النيتروجينية العضوية أو تثبيت للنيتروجين العنصرى . كما تتضـح أهمية هذه التحولات بالنسبة لتواجد هذا العنصر فـى التربـة وبالصـورة الملائمة للنبات .

دورة الفوسفور Phosphorous cycle

عنصر الفوسفور من العناصر السمادية الأساسية الهامة للنبات وهو يلى عنصر النيتروجين فى الأهمية ، ورغم إحتواء التربة على كميات كافية منه إلا أنه فى الكثير من الأحيان تظهر أعراض نقـص الفوسـفور علـى النباتات المزروعة . ويرجع ذلك إلى النقص فى الفوسفور القابل للإسـتفادة

بواسطة النباتات حيث أنه بمجرد إضافته للتربة فإنه يثبت حول الحبيبات ويصبح في صورة غير ميسرة للنبات .

يوجد الفوسفور فى التربة الزراعية فى الصورتين المعدنية والعضوية، وبالنسبة للفوسفور المعدنى فإنه يوجد عادة فى صورة فوسفات الكالسيوم أو الحديد أو الألومينوم وهذه الصورة لا يستفيد منها النبات كثيراً وقد يوجد الفوسفور فى التربة الزراعية في صورة فلورأبتيت وتعتبر هذه الصورة أقل صور الفوسفور إفادة للنبات . وعادة ما يضاف الفوسفور المعدنى للتربة في صورة سوبر فوسفات الكالسيوم وهى قابلة للإستفادة بواسطة النباتات ولكن بمجرد وصولها إلى التربة يحدث تحولات تتوقف على درجة pH التربة . ففى حالة التربة القاعدية تتحول فوسفات الكالسيوم الأحادية الذائبة إلى الصورة الثلاثية غير الذائبة أما فى الأراضى الحامضية فإن الفوسفات الذائبة تترسب فى صورة فوسفات حديد أو ألمونيوم وهاتين الصورتين أكثر مقاومة للإذابة من فوسفات الكالسيوم الثلاثية . وعموماً فإن هذه التحولات تسبب ظهور أعراض نقص الفوسفور على النباتات مما يستدعى معه إضافة المزيد من الأسمدة الفوسفاتية إلى التربة باستمرار . أما بالنسبة للفوسفور العضوى فى التربة فإن مصدره الرئيسى فى التربة هو البقايا النباتية المتحللة بالإضافة إلى أجسام الميكروبات الميتة من بكتيريا وفطريات وغيرها . بمجرد وصول الفوسفور إلى التربة من المصادر المختلفة سواء فى الصورة العضوية أو المعدنية يبدأ نشاط الكائنات الحية الدقيقة المتواجدة فى التربة فى إحداث تحولات هامة لهذا العنصر يمكن تلخيصها فى الآتى :

إذابة الفوسفات Solubilization of phosphates

تحتوى التربة على أعداد كبيرة من الميكروبات المتنوعة والقادرة على إذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة سواء كانت فى صورة فوسفات ثلاثى الكالسيوم أو فى صورة فوسفات حديد وألومنيوم وتحويلها إلى الصورة

الميسرة للنبات . ولقد تم تفسير الميكانيكية التى تتمكن بها هذه الميكروبـات من إذابة فوسفات ثلاثى الكالسيوم على أساس مقدرتها على إنتاج الأحماض العضوية وثانى أكسيد الكربون من خلال نشاطها التمثيلى مما يـؤدى إلـى إنخفاض درجة pH التربة مما يساعد على إذابة الفوسفات غير الذائبة . ومن بين الأحماض العضوية التى تنتجها هذه الميكروبـات حمـض الفورميـك والخليك والبروبيونيك والسكسنيك واللاكتيك والاسـتريك ، وكـذلك حمـض ٢-كيتوجلوكونيك والذى يعمل على سرعة إذابة الفوسفات وذلك لقدرتها على تكوين مركبات مخلبية مع الكالسيوم والحديد مما يساعد على إذابة الفوسفات. كما لوحظ أن ميكانيكية الإذابة الميكروبية للفوسفات تحت الظروف اللاهوائية تكون أكثر فعالية حيث أن تحلل المادة العضوية تحت هذه الظروف يخلـق قوة إختزالية تؤدى إلى إختزال الحديديك غير الذائب إلى الحديدوز الـذائب مما يؤدى إلى تحرر الفوسفور فى صورة صالحة للنبات . كما أن الأكسـدة غير الكاملة للمادة العضوية الكربوهيدراتية ينتج عنها نسـبة كبيـرة مـن الأحماض العضوية والتى تساعد على الإذابة . هذا بالإضافة إلـى كبريتيـد الهيدروجين H_2S المتكون تحت هذه الظروف نتيجـة لنشـاط الميكروبـات اللاهوائية والذى يتحد مع الحديد ويرسبه بينما يتحرر الفوسفور من فوسفات الحديد ويصبح فى صورة صالحة لإستخدام النباتات . ولهذا فإن صـلاحية الفوسفات للنبات تكون أكثر وضوحاً فى الأراضى المزروعـة أرز تحـت ظروف الغمر وبالتالى فإن هذه النباتات تحت مثل هذه الظروف لا تحتـاج إلى التسميد الفوسفاتى بنفس معدله تحت الظروف الهوائية .

معدنة الفوسفور العضوى Mineralization of organic phosphorous

يوجد الفوسفور فى البقايا النباتية وكـذلك فـى أجسـام الميكروبـات الموجودة فى التربة فى صورة العديد من المركبات العضوية مثـل الأحمـاض النووية والفيتين والفوسـفوليبيدات والليسـيثين وكـذلك السـكريات المفسـفرة

والمرافقات الإنزيممية وفوسفات الأدينوزين . وبمجرد وصول هذه المركبات إلى التربة يبدأ نشاط الكائنات الحية الدقيقة فى تحليلها عن طريق إفرازها لإنزيمات التحلل المائى المتخصصة والتى يطلق عليها فى مجموعها اسم إنزيمات الفوسفاتيز Phosphatases . وينتج عن ذلك تحرر الفوسفور فى الصورة المعدنية الصالحة لإستخدام النبات . ولقد وجد أن الفوسفور يوجد فى المركبات العضوية فى الصورة المؤكسدة PO_4 ولذا فإنه عند تحرره من المركبات العضوية يتحرر فى صورة فوسفات مباشرة دون الحاجة للأكسدة. ولقد وجد أن الأحماض النووية تعتبر أسرع المواد الفوسفاتية العضوية تحللاً فى التربة نظراً لإحتوائها على كل من الكربون والنيتروجين والفوسفور بنسب كافية لإحتياجات كثير من الميكروبات المحللة لها مما يشجع نمو هذه الميكروبات .

التمثيل الميكروبى للفوسفور Microbial metabolism of phosphorous

تحتاج الميكروبات للفوسفور فى بناء أجسامها ولذلك فهى تلجأ إلى الفوسفات المعدنية الذائبة فى التربة وتحويلها إلى فوسفات عضوية فى أجسامها من خلال عملية تمثيل Immobilization لهذه الفوسفات . ولقد وجد أن كميات الفوسفات المذابة فى التربة تكون كافية لنشاط الأحياء الدقيقة فى الظروف العادية ولكن عند إضافة مادة عضوية فقيرة فى الفوسفور إلى التربة فإن الميكروبات تنافس النباتات على الفوسفور الميسر فى التربة حيث أن عند تحليلها لهذه المادة فإنها لا تجد فيها ما يكفيها من الفوسفور لبناء أجسامها ولذلك فإن هذه الميكروبات تلجأ إلى الفوسفور المعدنى الذائب فى التربة لتكمل إحتياجاتها مما يقلل من الفوسفور الصالح لإستخدام النبات وقد يتأثر المحصول من ذلك إلى حد كبير . ولذلك عند إضافة مادة عضوية فقيرة فى الفوسفور إلى التربة فإنه يجب إضافة سماد فوسفاتى معدنى لتعويض الفقد الحادث فى التربة نتيجة لنشاط الميكروبات فى تحليل هذه المادة العضوية أو أن تضاف هذه المادة فى التربة الفقيرة فى محتواها الفوسفورى إلى التربة قبل الزراعة بفترة

كافية حتى يتم تحلل هذه المادة بسرعة وتضييق نسبة الكربون إلى الفوسفور فيها . أما إذا كانت المادة العضوية المضافة للتربة غنية فـــى محتواهـــا مـــن الفوسفور فإن الميكروبات عند تحليلها لهذه المادة فإنها تأخذ ما يكفيهـــا لبنـــاء خلايا جديدة والمتبقى يتحرر فى التربة في صورة فوسفور معدنى ذائب صالح لإستخدام النباتات مما يزيد من خصوبة التربة .

تفاعلات الأكسدة والإختزال Oxidatiob reduction

قد يحدث لمركبات الفوسفور الموجودة في التربة تفـــاعلات أكســـدة وإختزال محدودة وتقل فى أهميتها كثيراً عن التفاعلات التى تحدث لمركبات النيتروجين والسبب فى ذلك أن الفوسفور يوجد فى المركبات العضوية فـــى الصورة المؤكسدة حيث يرتبط بالمركب العضـــوى فـــى صـــورة H_3PO_4 وعندما يتحرر من المادة العضـــوية فإنـــه يتحـــرر فـــى صـــورة حمـــض أرثروفوسفوريك H_3PO_4 الجاهزة للإستخدام المباشر بواسطة النبات .

المراجع

المراجع الأجنبية

Abu-Ruwaida, A.S.; I.M. Banat; S. Haditirto and A. Khamis (1991). Nutritional requirements and growth characteristics of a biosurfactant producing Rhodococcus bacterium. World J. Microbiol. Biotechnol., 7: 53-61.

Alexander, M. (1977). Introduction to Soil Microbiology . The 2nd ed., John Wiley & Sons , Newyork.

Atlas, R.M. and R. Bartha (1992). Hydrocarbon biodegradation and oilspill bioremediation. Adv. Microb. Ecol., 12: 287-338.

Ayers, J.C.; J.O. Mundt and W.E. Sandine (1980). Microbiology of Foods. Freeman Co., San Francisco, USA.

Banat, I.M. (1995). Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation : a review. Biosource Technol., 51: 1-12.

Boopathy, R. (2000). Bioremediation of explosives contaminated soil. International Biodeterioration and biodegradation 46: 29-36.

Collins, C.H. and Lyne, P.M. (1985). Microbiological Methods. The 5th ed., Butter Worth & Co. Pub., Ltd., London.

Dang, J.L.; Heroux, K.; Kearney, J.; Arasteh, A.; Gostomski, M. and Emanuel, P.A. (2001). Bacillus spore inactivation methods affect detection assays. Appl. Environ. Microbiol., 67(8): 3665-3670.

FAO/WHO (1984). The role of Food Safety in Health and Development. Would Health Organization, Geneva.

Frazier, W.C. and D.C. Weathoff (1978). Food Microbiology. The 3rd ed., McGraw Hill Co., New York.

Friedlander, A.M. (2000). Clinical features, pathogenesis and potential biological warfare threat. Curr. Clin. Top. Infect. Dis., 20: 335-349.

Grobbelaar, U.G.; Botesl, E.; van den Heever, J.A. and Oberholster J.P. (2004). Scope and Dynamics of Toxins Produced by Cyanophytes in the Freshwaters of South Africa and the Implications for Human and Other Users. 5th Asia-

Pacific Conference on Algal Biotechnology, Qindao, China, October.

Halt, J.G.; N.R. Krieg; P.H.A. Sneath; J.T. Stanley and S.T. Williams (1994). Bergy's Manual of Determinative Bacteriology. The 9th ed., Williams & Wilkins, Baltimore.

Jones, G. and Sivonen, K. (1999). Toxic cyanobacteria in Water : a guide to their public health consequences, monitoring and management, Geneva, World Health Organization.

Kankaanpaa, H.T.; Holliday, J.; Schroder, H.; Goddard, T.J.; Von Fister R. and Carmichael W.W. (2005). Cyanobacteria and prawn farming in northern New South Wales, Australia-a case study on cyanobacteria diversity and hepatotoxin bio-accumulation. Toxicol Appl. Pharmacoi. 203(3): 243-256.

Kaplan, A. and L. Reinhold (1999). CO_2 concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 539-70.

Leifson, E. (1960). Atlas of bacteria flagellation . Academic press , Newyork.

Levin, L.; Viale, A. and Forchiassin, A. (2003). Degradation of organic pollutants by the white-rot basidiomycete Trametes trogii. International Biodeterioration and biodegradation 52: 1-5.

Linton, A.H. (1987). Microbes, Man and Animals. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Lowrie, P. and S. Wells (1991). Microorganisms, Biotechnology and Disease. Cambridge University press.

Madigan, M. and Martinko, J. (editors). (2005). Brock Biology of Microorganisms, 11th ed., Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1.

Marth, E. H. (1978). Standard Methods for Examination of Dairy Products . The 14th ed., Am. Pub. Health Assoc., Washington, D. C. USA.

Oh, Y.S.; Maeng, J. and Kim, S.J. (2000). Use of microorganism-immobilized polyurethane foams to absorb and degrade oil on water surface. Applied Microbiology and Biotechnology 54, 418-423.

Ongena, M.; Duby, F.; Rossignol, F.; Fouconnier, M.L.; Dommes, J. and Thonart, P. (2004). Stimulation of the lipoxygenase pathway is associated with systemic resistance induced in bean by a nonpathogenic *Pseudomonas* strain. Mol. Plant-Micrope Interact. 17: 1009-1018.

Pal, K.K. and B. McSpadden Gardener (2006). Biological Control of Plant Pathogens The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.

Pelezar, M.J.; E.C.S. Chan and N.R. Kerieg (1986). Microbiology. McGraw-Hill Co., New York.

Pr ..ott and Dunn's . (1981) . Industrial Microbiology . The 4th ed., Gerald Reed, CBS pub. & Distribute., India.

Quek, **E.; Tng, Y.P. and Tan, H.M. (2005).** Rhodococcus sp. F92 immobilized on polyurethane foam shows ability to degrade various petroleum products. Bioresource Technology 97, 32-38.

Ryu, C.M.; Farag, M.A.; Hu, C.H.; Reddy, M.S.; Kloepper, J.W.; and Pare, P.W. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 134: 1017-1026.

Silliker, J. H. and Elliott, R. P. (1980). Microbial Ecology of Foods. Volume II . Food Commodities . Academic Press, Newyork.

Singleton, P. (1997). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine. The 4th ed., John Wiley & Sons, New York.

Spoerke, D.G. and Hall, A.H. (1990). Plants and mushrooms of abuse. Emerg. Med. Clin. North Amer., 8: 579-593.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (1993). The 18th ed., APHA.

Swannell, R.P.J.; Lee, K. and Mcdonagh, M., (1996). Field evaluations of marine oil spill bioremediation. Microbiological Reviews 60, 342-365.

Tizard, I. J. and Chan, E. C. S. (1981). Immunology : an Introduction . Saunders College publishing , Newyork.

Tortora, G.J.; B.R. Funke and C.L. Case (2001). Microbiology : An Introduction. The 7th ed., Addison Wesley Longman.

المراجع العربية

ألكسندر مارتن (١٩٨٢) . مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة . الطبعة الثانية . جون وايلى نيويورك . مكتبة الأهرام – القاهرة .

حمزة النخال (١٩٧٠) . علم الأحياء الدقيقة . الطبعة الأولى – دار المعارف – القاهرة – الطبعة الأولى .

سعد على زكى محمود – عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ومحمد الصاوى مبارك (١٩٨٠) . ميكروبيولوجيا الأراضى . مكتبة الأنجلو المصرية – ش محمد فريد – القاهرة .

عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ومحمد الصاوى مبارك . (١٩٩٦) . الميكروبيولوجيا التطبيقية – المكتبة الأكاديمية – القاهرة – الطبعة الأولى

عبد الرزاق عبد الرحمن أبو سعدة (١٩٩٩) . مملكة الفطريات . مطابع مجموعة الفيروز – القاهرة .

محمد على أحمد ومحمد عبد الرازق (١٩٩٩) . الفطريات الصناعية ، الدار العربية للنشر والتوزيع – القاهرة .

محمد محمد عمار (٢٠٠٣) . الفطريات . (الجزء الثانى) الفسيولوجى ، التكاثر وعلاقتها بالبيئة والإنسان . الدار العربية للنشر والتوزيع – القاهرة .

مصطفى كمال أبو الدهب ومحمد عبد القادر الجعرانى (١٩٨٤) . البكتيريا . دار المعارف – القاهرة – الطبعة الثانية .

رقم الإيداع

٢٠٠٧/٢٣٣٧٥

2007/23375

الترقيم الدولى

٩٧٧ ـ ٦١٨٦ ـ ٥١ ـ ٣

I.S.B.N 977 – 6186 – 51 - 3

المؤلف في سطور

أ.د . حسين عبد الله محمد الفضالي :

- من مواليد شبرا الخيمة محافظة القليوبية في ١٩٥٦/٦/١٥
- تزوج ورزق بولدين هما طه ، أسامة
- تلقى تعليمه قبل الجامعي بشبرا الخيمة – محافظة القليوبية
- حصل على بكالوريوس العلوم الزراعية (ميكروبيولوجى) دور يونية عام ١٩٧٨ بتقدير عام جيد جداً من كلية الزراعة جامعة عين شمس
- أدى الخدمة العسكرية عام ١٩٧٩
- عين معيداً بالتكليف بقسم النبات الزراعى بكلية الزراعة جامعة المنصورة فى ١٩٧٩/٣/٥
- حصل على الماجستير فى العلوم الزراعية (ميكروبيولوجى) عام ١٩٨٥ من كلية الزراعة – جامعة المنصورة وعين مدرس مساعد فى ١٩٨٥/٥/١٣
- حصل على منحة الدكتوراه من الجامعة الفنية ببودابست جمهورية المجر عام ١٩٨٨
- عضو اللجنة التنفيذية للمؤتمر الـ٣٣ IUPAC فى الفترة من عام ١٩٩١ والذى نظمته أكاديمة العلوم المجرية ببودابست - المجر
- قضى أسبوعين فى مدينة هانوفر بألمانيا كزيارة علمية فى ديسمبر ١٩٩٢
- حصل على الدكتوراه فى التخمرات الميكروبية عام ١٩٩٣ من قسم تكنولوجيا الكيمياء الزراعية - كلية الهندسة الكيماوية – الجامعة الفنية ببودابست – المجر
- عين مدرساً بقسم الميكروبيولوجيا – كلية الزراعة – جامعة المنصورة فى ١٩٩٣/١١/٢٩
- عين أستاذاً مساعداً بقسم الميكروبيولوجيا – كلية الزراعة – جامعة المنصورة فى ١٩٩٨/١٢/٢٨
- عين أستاذاً بقسم الميكروبيولوجيا – كلية الزراعة – جامعة المنصورة فى ٢٠٠٤/١/٢٠
- أشرف على ٢٥ رسالة ماجستير ودكتوراه فى مجالات الميكروبيولوجيا المختلفة
- شارك فى العديد من المؤتمرات العلمية المحلية والعربية والدولية
- عين أستاذاً للميكروبيولوجيا الزراعية - كلية زراعة دمياط - جامعة المنصورة فى ٢٠٠٧/٤/٣٠
- عين رئيساً لقسم الميكروبيونوجيا كلية الزراعة بدمياط – جمعة المنصورة فى ٢٠٠٧/٦/١٤
- له ما يقرب من ٧٥ بحث منشور فى مجالات الميكروبيولوجيا الزراعية المختلفة
- باحث رئيسى لمشروع تحسن إنتاجية القمح بأراضى شمال الدلتا باستخدام التسميد الحيوى فى ٢٠٠٦
- شارك فى مناقشة العديد من الرسائل العلمية بجامعة المنصورة وخارجها
- شارك كعضو فى لجان تأهيلى الدكتوراه بجامعة المنصورة وخارجها
- عضو جمعية الميكروبيولوجيا التطبيقية منذ ١٩٧٩
- عضو نقابة المهن الزراعية منذ ١٩٧٩
- عضو مجلة العلوم الزراعية – جامعة المنصورة منذ ١٩٨٠